

А.В. Родина

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ БЕЛОК-ТРАНСЛОКАЗА 18 кДа КАК БИОМАРКЕР РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ

НИИЦ «Курчатовский институт», Москва

Контактное лицо: А.В. Родина, e-mail: Rodina_AV@nrcki.ru

СОДЕРЖАНИЕ

В обзоре представлены современные знания о структуре белка-транслоказы 18 кДа TSPO, его полиморфных вариантах, регуляции экспрессии гена и функциях в клетках ЦНС. Особое внимание уделяется его роли в регуляции гомеостаза митохондрий в клетках микроглии при нейровоспалении в отдаленный период после действия ионизирующего излучения. Обобщены данные об эффективности некоторых лигандов TSPO для визуализации и лечения нейровоспаления с целью восстановления когнитивных функций при нейродегенеративных патологиях. Основываясь на данных об уровне экспрессии TSPO в мозге и клетках периферической крови в отдаленный период после облучения, можно заключить, что TSPO может рассматриваться как перспективный маркер для диагностики развития нейровоспаления.

Сокращения: АФК – активные формы кислорода, БА – болезнь Альцгеймера, AP1 – активирующий протеин 1 (Activator protein 1), ANT – транслокатор адениловых нуклеотидов 32 кДа (Adenine nucleotide translocator), CRAC – холестерин-распознающая аминокислотная последовательность (cholesterol-recognition amino acid consensus), GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок (glial fibrillary acidic protein) HMGB1 – белок с высокой электрофоретической подвижностью В1 (high-mobility group protein B1), IL – интерлейкин (Interleukin), LPS – липополисахарид (Lipopolysaccharide), NOX2 – NADPH оксидаза 2 (NADPH oxidase 2), NFkB – ядерный фактор каппа-В (Nuclear factor kB), TLR – Toll-like рецептор (Toll-like receptor), TNF α – фактор некроза опухоли α (Tumor necrosis factor alpha), VDAC1 – потенциал-зависимый анионный канал (Voltage-Dependent Anion Channel)

Ключевые слова: ионизирующее излучение, радиационно-индуцированное нейровоспаление, микроглия, белок-транслоказа TSPO, позитронная эмиссионная томография, радиолиганды

Для цитирования: Родина А.В. Митохондриальный белок-транслоказа 18 кДа как биомаркер радиационно-индуцированного нейровоспаления // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 35–45. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-35-45

A.V. Rodina

The Mitochondrial 18 kDa Translocator Protein as a Biomarker of Radiation-Induced Neuroinflammation

NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia

Contact person: A.V. Rodina, e-mail: Rodina_AV@nrcki.ru

CONTENTS

The review presents current knowledge about the structure of the 18 kDa translocator protein TSPO, its polymorphic variants, regulation of its gene expression and function in the cells of CNS. Particular attention is paid to its role in mitochondrial homeostasis in microglia under neuroinflammation in the long-term period after ionizing radiation exposure. Data on the effectiveness of several TSPO ligands for diagnostic imaging and treatment of neuroinflammation for restoring cognitive functions in neurodegenerative pathologies are summarized. Based on the TSPO level in the brain and in the peripheral blood cells late after irradiation, TSPO is discussed as a potential marker of neuroinflammation development.

Keywords: ionizing radiation, radiation-induced neuroinflammation, microglia, translocator protein TSPO, positron emission tomography, radioligand

For citation: Rodina AV. The Mitochondrial 18 kDa Translocator Protein as a Biomarker of Radiation-Induced Neuroinflammation. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):35–45. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-35-45

Введение

Радиационно-индуцированное повреждение ЦНС – проблема, которой посвящено большое количество экспериментальных работ в связи с актуальностью изучения отдаленных последствий облучения человека при техногенных авариях, облучения мозга при лучевой терапии и возможности облучения космонавтов при дальних космических полетах [1]. Развитие нейровоспаления в отдаленный период после облучения, в основе которого лежит активация глиальных клеток и секреция ими провоспалительных факторов, приводит к возникнове-

нию и прогрессированию нейродегенерации, и появлению когнитивных нарушений [2]. Несмотря на высокую потребность в выявлении признаков нейровоспаления при повреждении ЦНС, на сегодняшний день отсутствуют специфические биомаркеры, которые могли бы использоваться для мониторинга нейровоспаления и прогнозирования когнитивных нарушений, развивающихся в отдаленный период после действия ионизирующего излучения, а также для контроля эффективности их фармакологической коррекции. Митохондриальный белок-транслоказа с молекулярной массой 18 кДа (TSPO) явля-

ется одним из маркеров активированных глиальных клеток [3]. Способность этого белка регулировать уровень активных форм кислорода (АФК) и окислительно-восстановительный баланс митохондрий в клетках микроглии, свидетельствует о том, что при повреждении ЦНС, сопровождающимся митохондриальной дисфункцией, изменение экспрессии TSPO отражает нарушение гомеостаза глиальных клеток [4].

В настоящее время прижизненная визуализация нейровоспаления с использованием радиоактивно-меченных лигандов белка TSPO применяется для детекции патологических изменений в мозге методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) при различных нейродегенеративных патологиях и онкологических заболеваниях. Несмотря на то, что были получены хорошие результаты при использовании различных радиолигандов TSPO для детекции нейровоспаления, их клиническое применение затруднено, во-первых, из-за наличия однонуклеотидного полиморфизма A147T в гене *Tspo*, приводящего к снижению эффективности связывания радиолигандов второго поколения. Последние разработки лигандов TSPO третьего поколения позволили исключить влияние полиморфизма на их связывание и визуализацию TSPO. В то же время более глубокое понимание различий в структуре A147T и WT TSPO и широкий скрининг новых лигандов с помощью методов структурной биологии может помочь получить препараты с оптимальной структурой и высоким сродством к белку. Кроме того, при накоплении знаний об экспрессии TSPO во множестве фенотипов микроглии и о последовательности активации астроцитов и микроглии на различных этапах развития нейровоспаления, может стать более точной интерпретация ПЭТ-изображений, полученных с помощью радиолигандов TSPO.

Существует связь между периферическим и центральным иммунитетом, которая обеспечивает корреляцию между изменением уровня TSPO в периферической иммунной системе и в мозге, поэтому определение изменения уровня TSPO в периферической крови может позволить получить более чувствительный метод детекции специфической иммунной активации в мозге. Сравнительный анализ уровня этого белка в клетках мозга и периферической крови при радиационных воздействиях ранее не проводился, хотя, возможно, он позволит создать способ ранней диагностики и прогнозирования развития нейровоспаления в ЦНС в отдаленный период после облучения мозга при лучевой терапии.

Целью настоящего обзора является обобщение современных представлений о структуре TSPO и механизмах участия этого белка в развитии нейровоспаления. Особый акцент сделан на анализе данных об экспрессии TSPO в глиальных клетках и клетках периферической крови в условиях воспаления и окислительного стресса после действия ионизирующего излучения для демонстрации перспективности использования TSPO в качестве потенциального биомаркера степени радиационно-индуцированного повреждения ЦНС.

Строение и функции TSPO

Белок-транслоказа 18 кДа TSPO был открыт и охарактеризован в 1977 г. как периферический бензодиазепиновый рецептор (*peripheral benzodiazepine receptor*, PBR), имеющий высокое сродство к бензодиазепину диазепаму. Этот белок был случайно идентифицирован в эксперименте Braestrup et al при исследовании связывания [³H]-диазапама с центральным бензодиазепиновым рецептором (*central benzodiazepine receptor*, CBR) в почках крысы [5]. В 1990–2000-х гг. после публикаций

первых данных о роли TSPO в транспорте холестерина при синтезе стероидов интерес к исследованиям функций этого белка начал расти [6]. В это же время ген *Tspo* был клонирован и выделен белок как из прокариотических, так и из эукариотических клеток [7].

TSPO представляет собой интегральный белок наружной мембраны митохондрий, состоящий из 5 α -спиралей, и имеющий на С-конце последовательность, необходимую для его импорта в митохондрию, так как, в отличие от большинства митохондриальных белков, TSPO кодируется ядерной ДНК [8]. После встраивания в митохондриальную мембрану образуются димерные, а также тетрамерные и гексамерные формы белка. TSPO становится частью мультимерного белкового комплекса (140–200 кДа), локализованного во внешней и внутренней мембранах митохондрий. В этот комплекс входит потенциал-зависимый анионный канал (*Voltage-Dependent Anion Channel*, VDAC1), AAA-АТФаза (ATAD3A, белок, формирующий контакт между внешней и внутренней митохондриальными мембранами), транслокатор адениловых нуклеотидов 32 кДа (ANT), принадлежащий к суперсемейству цитохромов P450 (CYP11A1) во внутренней мембране митохондрий и некоторые другие белки. Кроме того, цитозольные белки, в частности регуляторная субъединица I α сАМР-зависимой протеинкиназы А (PKA-R1 α), белки эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи также связываются с TSPO, что приводит к образованию функционального комплекса, который получил название «трандуктосома». VDAC1 обеспечивает прохождение нуклеотидов, метаболитов и ионов, включая кальций (Ca²⁺), между митохондриальным межмембранным пространством и цитоплазмой, а ANT осуществляет транслокацию АТФ/АДФ через внутреннюю мембрану митохондрий [8]. TSPO, VDAC1 и ANT являются ключевыми компонентами митохондриальной поры временной проницаемости (*mitochondrial permeability transition pore*, mPTP), открытие которой повышает проницаемость митохондрий для переноса молекул с молекулярной массой $\leq 1,5$ кДа через мембрану. TSPO модулирует функционирование mPTP, увеличивая продолжительность их открытия, что приводит к разобщению окислительного фосфорилирования, снижению митохондриального мембранного потенциала (*mitochondrial membrane potential*, MMP), вызывая повышение генерации активных форм кислорода (АФК), деполяризацию мембраны митохондрий и высвобождение цитохрома С, что в итоге приводит к индукции апоптоза [9].

Участие TSPO в транспорте холестерина при синтезе стероидов было изучено и подтверждено более чем 30-летними исследованиями с использованием генетических, биохимических и фармакологических подходов [10]. TSPO связывает холестерин в области цитозольного карбоксильного конца 5 домена, имеющего последовательность аминокислот CRAC (*cholesterol-recognition amino acid consensus*), и осуществляет транспорт холестерина через внешнюю мембрану к внутренней мембране митохондрий, где под действием фермента CYP11A1, отщепляющего боковую цепь, холестерин превращается в прегненолон, который диффундирует в цитоплазму, где используется в синтезе стероидных гормонов. Поэтому в нормальных физиологических условиях наибольшее содержание TSPO наблюдается в основном в печени, надпочечниках и других тканях, где осуществляется синтез стероидов [10].

В ЦНС в норме обнаруживается очень низкий уровень TSPO, преимущественно в эндотелиальных, эндотелиальных клетках и клетках микроглии. В нейронах

его содержание незначительно, а в условиях стресса и при повреждении мозга повышается содержание TSPO в клетках активированной микроглии и в реактивных астроцитах, что позволяет рассматривать этот белок в качестве маркера повреждения мозга, сопровождающегося активацией глиальных клеток [3, 11]. Исследование Notter T. et al показало, что стимуляция активности нейронов у экспериментальных животных с помощью ряда факторов, включая физиологический (изменение окружающей среды) и фармакологический (при действии психотропного препарата амфетамина), приводила к увеличению уровня экспрессии гена и белка TSPO только в нейронах, но не в микроглии или астроцитах [12]. В то же время в этом исследовании было обнаружено, что базовый уровень TSPO в нейронах значительно ниже, чем в клетках микроглии и астроцитах, в которых его высокий уровень обусловлен значительными потребностями в энергии даже при отсутствии патологических стимулов, а после действия вышеперечисленных факторов уровень этого белка в нейронах все же не достигает даже его базового уровня в глиальных клетках.

При изучении действия малых доз ионизирующего излучения на экспрессию TSPO в ЦНС было показано, что через 48 ч после облучения животных в дозе 10 мГр наблюдается снижение уровня мРНК *Tspo* и детектируется отсутствие индукции экспрессии белка TSPO и Iba1 в головном мозге, а облучение в дозе 2 Гр приводит к увеличению экспрессии мРНК *Tspo* в мозге и в первичной культуре клеток микроглии [13].

Исследование, проведенное на клетках первичной микроглии человека с нокаутом гена *Tspo*, продемонстрировало, что белок TSPO опосредует такие функции митохондрий, как регуляция MMP, увеличение уровня цитозольного Ca²⁺, экспрессия VDAC1 и открытие mPTP [14]. Также было установлено, что в клетках микроглии TSPO осуществляет перенос гема из митохондрий в цитозоль и его включение в белок gp91phox, который является основной субъединицей NADPH оксидазы (NADPH oxidase, NOX2), что приводит к ее димеризации с p22phox и образованию Cytb558, так как в отсутствие гема gp91phox и p22phox не образуют димера (т.е. Cytb558) и подвергаются деградации в протеасоме [15]. Холестерин включается в липидные рафты, необходимые для перемещения цитозольных субъединиц NOX2 в плазматическую мембрану с образованием активного комплекса. Цитозольные субъединицы встраиваются в плазматическую мембрану и мембраны эндоплазматического ретикулума, образуя мембрано-связанный ферментативный комплекс NOX2, который осуществляет перенос двух электронов от NADPH на молекулярный кислород с образованием супероксида и обеспечивает продукцию АФК [15]. Функции TSPO в клетках микроглии и механизмы активации сигнальных путей, приводящих к индукции экспрессии генов провоспалительных белков и увеличению продукции АФК, вызывающих развитие нейровоспаления и окислительный стресс при активации этих клеток под действием ионизирующего излучения, представлены на рис. 1.

Полиморфизм гена *Tspo* и сигнальные пути, регулирующие его транскрипцию

Животные и растения имеют два гена TSPO – *Tspo1* и *Tspo2*, который появился в результате дупликации в процессе эволюции. Сравнительный анализ белков TSPO1 и TSPO2 показал, что продукт гена *Tspo2* потерял сродство к связыванию с лигандом, а также локализация белка TSPO2 отличается от TSPO1, так как TSPO2 находится в мембране эндоплазматического ретикулума и

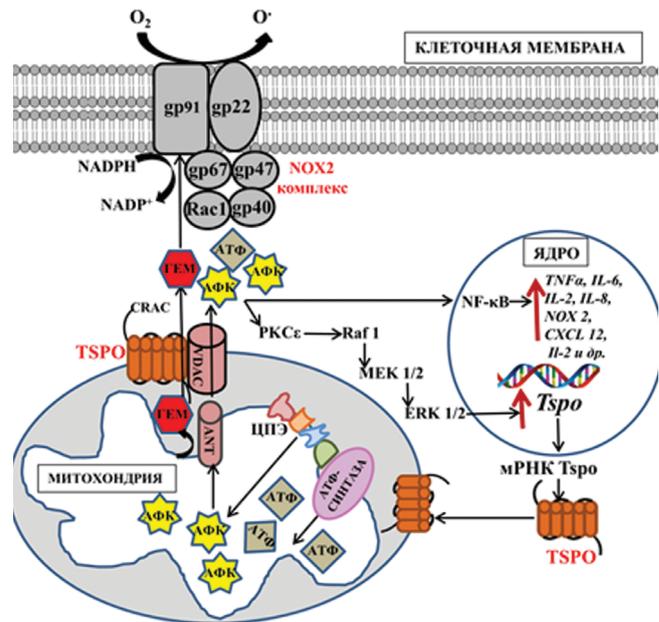


Рис. 1. Механизмы активации сигнальных путей с участием белка-транслокатра 18 кДа TSPO в клетках микроглии после действия ионизирующего излучения: повышение экспрессии генов провоспалительных факторов и регуляция содержания и активности NADPH оксидазы 2 (NOX2). Увеличение содержания митохондриальных АФК и АФК, образовавшихся в результате радиолитического разложения воды при облучении клеток, приводит к активации протеинкиназы Cε (PKCε) и сигнального пути Raf-1-MEK1/2-ERK1/2, что вызывает индукцию экспрессии гена TSPO. TSPO осуществляет перенос гема от внутренней мембраны митохондрий к gp91phox, который после этого может димеризоваться в эндоплазматическом ретикулуме с p22phox, образуя цитохром b558 (Cytb558) – основную каталитическую субъединицу NOX2. Активация NOX2 способствует транслокации цитозольных субъединиц p40, p47, p67 и Rac1 к плазматической мембране с образованием активного комплекса NOX2. ЦПЭ – цепь переноса электронов. По [8, 15]

Fig. 1. Mechanisms of the 18 kDa translocator protein TSPO signal pathways activation in microglia after ionizing radiation exposure: increased of pro-inflammatory factors gene expression and regulation of the NADPH oxidase 2 (NOX2) content and activity. An increase of the mitochondrial ROS level and ROS generation by water radiolysis after cells irradiation may activate the protein kinase Cε (PKCε) and the Raf-1-MEK1/2-ERK1/2 signalling cascade, which promotes Tspo transcription. TSPO transfers heme from the inner mitochondrial membrane to gp91phox, it is able to dimerize with p22phox in the endoplasmic reticulum and form the cytochrome b558 (Cytb558), the principal catalytic subunit of NOX2. NOX2 activation promotes the translocation of the cytosolic subunits p40, p47, p67, and Rac1 to the plasma membrane to form an active NOX2 complex. ETC – electron transport chain. From [8, 15]

ядерной мембране преимущественно в клетках эритроидного ряда [16].

Ген *Tspo1* расположен на длинном плече 22-й хромосомы человека (q13.2) и кодирует гидрофобный белок TSPO1 массой 18 кДа, состоящий из 169 аминокислот [17]. У человека выявлено несколько полиморфных вариантов этого гена, включая rs6971 [18]. Этот вариант однонуклеотидного полиморфизма вызван заменой в 147-м положении аланина на треонин (A147T), что приводит к изменению аффинности связывания TSPO с такими специфическими лигандами, как PBR-28, DPA-713 и DAA1106 [18]. В исследованиях методом ПЭТ было выявлено, что около 50–65 % доноров имеют высокое сродство к этим лигандам (high affinity binders; HABs), ~ 5–25 % доноров имеют низкое сродство (low affinity binders; LABs), а у 30 %, наблюдалось связывание некоторых лигандов в двух сайтах с константой связывания, близкой к средней между константами связывания HABs и LABs лигандов (mixed affinity binders; MABs) [19]. Согласно базе данных Harmap (<http://harmap.ncbi>).

nlm.nih.gov), rs6971 полиморфизм присутствует у 30 % европейцев, 25 % африканцев, 4 % японцев, и 2 % китайцев. Популяция с NABs гомозиготна по TSPO дикого типа, с MABs являются гетерозиготными, а с LABs - гомозиготными по TSPO A147T1 [18, 19]. Обнаружение влияния полиморфизма A147T TSPO на связывание лигандов TSPO привело к изменению подходов к их клиническому использованию, которое предусматривает предварительное генотипирование и исключение пациентов с LABs. Этот подход оказался успешным для использования синтетических радиолигандов TSPO и позволил детектировать методом ПЭТ более высокое накопленное TSPO в головном мозге при рассеянном склерозе, боковом амиотрофическом склерозе, мягком когнитивном снижении и болезни Альцгеймера по сравнению с контролем [20–23].

В то же время, наличие полиморфизма A147T TSPO связывают с нарушением функции гипоталамо-гипофизарной регуляции активности надпочечников и с предрасположенностью носителей мутации к психическим расстройствам [24]. Было установлено, что у пациентов с полиморфным вариантом TSPO снижается эффективность фармакологической коррекции панических атак анксиолитиками – лигандами TSPO [25]. У здоровых доноров с A147T TSPO определяется пониженное содержание прегненолона [26] и снижается индуцированный адренкортикотропным гормоном (АКТГ) синтез кортикостероидов [27]. Нарушение регуляции ритма кортизола, обнаруженное при наличии полиморфизма A147T TSPO, коррелирует с периодами обострения при биполярных расстройствах [28].

Ген *Tspo1* конститутивно экспрессируется на высоком уровне в стероидогенных и индуцируется при определенных воздействиях в нестероидогенных клетках, а регуляция транскрипции гена осуществляется преимущественно через PKC ϵ -зависимый путь передачи сигнала [8]. PKC ϵ активирует Raf-МЕК [МАРК (митоген-активируемая киназа)/ERK (киназа, регулируемая внеклеточными сигналами) киназа] и через сигнальный путь ERK МАРК индуцирует транскрипцию гена *Tspo* с участием транскрипционных факторов c-Jun, Ets, AP1 и STAT3. Для инициации транскрипции *Tspo* необходимы факторы транскрипции Ets и Sp1/Sp3, расположенные в промоторных областях 805–515 и 123–1. Доказано, что триггером для экспрессии TSPO являются АФК, а чувствительными к АФК элементами являются AP1, ERK1/2 и PKC ϵ . Обнаружено, что увеличение продукции АФК в астроцитах приводит к повышению ядерного фактора транскрипции Sp1 и повышению мРНК *Tspo*. Повышение экспрессии *Tspo* также наблюдалось после действия соединений, вызывающих увеличение в клетках уровня АФК, таких как провоспалительный цитокин TNF α , форбол-12-миристан-13-ацетат (phorbol-12-myristate 13-acetate, PMA) и ингибитор МЕК 2-(2'-амино-3'-метоксифенил)-оксанофталлин-4-один (PD98059) [8]. Показано, что гиперэкспрессия TSPO, вызванная повышенной продукцией АФК, является причиной TSPO-опосредованного ингибирования митофагии, и наличие этого механизма, например, в клетках поверхностных слоев эпидермиса защищает их от апоптоза, вызванного повышением АФК под действием УФ-излучения [29]. Гиперэкспрессия *Tspo* приводит к повышению АФК в клетке, в свою очередь, АФК по принципу положительной обратной связи индуцирует транскрипцию этого гена. В условиях окислительного стресса повышение уровня TSPO может быть физиологически важным для защиты митохондрий от АФК, однако если цикл положительной обратной связи, вызывающий гиперэкспрессию

гена, будет продолжительным, то за счет кумулятивного эффекта будет происходить TSPO-опосредованное подавление митофагии в течение длительного времени, что негативно повлияет на гомеостаз митохондрий и функции клеток [8]. Также есть данные, подтверждающие то, что слишком продолжительный окислительный стресс может снижать экспрессию TSPO, способствуя гибели клеток, однако точные внутриклеточные механизмы такой регуляции не установлены [8].

Некоторые гормоны, в частности эстрадиол и альдостерон, регулируют экспрессию *Tspo* [30]. Регуляция этими гормонами необходима для поддержания конститутивной экспрессии, причем показано, что в стероидогенных тканях после хирургического удаления гипофиза и надпочечников наблюдается снижение уровня TSPO. В ряде исследований было показано, что воздействие стероидных гормонов изменяло экспрессию гена *Tspo*, но уровни мРНК и белка не всегда коррелировали, что могло зависеть от конформационных изменений белка. Было установлено, что стимуляция адренкортикотропином синтеза стероидных гормонов через цАМФ-зависимую протеинкиназу А (РКА) приводит к изменению конформации белка вследствие фосфорилирования [30].

Рецептор активатора пролиферации пероксисом α (PPAR α) вызывает снижение экспрессии гена *Tspo* [8, 30]. PPAR α может взаимодействовать с транскрипционными факторами: ядерным фактором NF- κ B, STATs и AP1. PPAR α уменьшает связывание AP1 с PKC ϵ -ассоциированным сайтом промотора *Tspo*, что приводит к снижению экспрессии и синтеза мРНК. Показано, что активация PPAR α через цАМФ-РКА-зависимый сигнальный путь приводит к уменьшению провоспалительных эффектов из-за снижения экспрессии *Tspo* [30].

Уровень экспрессии белка TSPO в клетках микроглии при развитии нейровоспаления и окислительного стресса

Нейровоспаление представляет собой вызванный повреждением мозга процесс, характеризующийся активацией резидентной микроглии, астроцитов и экспрессией широкого спектра воспалительных медиаторов. Нейровоспаление является одной из причин прогрессирования нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера (БА) и болезнь Паркинсона, и приводит к появлению когнитивных нарушений [13].

Развитие нейровоспаления происходит при взаимодействии реактивной микроглии и астроцитов. Клетки микроглии активируются при повреждении, например, в результате травмы головы, при инсульте или при появлении патогенов. К факторам, вызывающим активацию микроглии, могут относиться также: действие токсинов, аутоиммунные реакции, накопление патологических белков, которые нарушают функции нейронов (β -амилоид, α -синуклеин и др.) [19]. Клетки резидентной микроглии могут приобретать провоспалительный M1 фенотип в результате активации паттерн-распознающих рецепторов (pattern recognition receptors (PRR)), включающих Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors (TLR)) при появлении патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) или высвобождения молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (danger-associated molecular patterns (DAMPs)) из разрушающихся нейронов [31]. DAMPs включают разнообразные молекулы, в том числе внутриклеточные белки, высвобождающиеся после повреждения клеток, например, белок высокой электрофоретической подвижности B1 (high-mobility group protein B1, HMGB1), белок S100, белки теплового шока (heat shock proteins, HSP), хромо-

гранин А и β-амилоид. Другая группа DAMPs – это нуклеиновые кислоты, такие как митохондриальная ДНК (мт-ДНК), ДНК и нуклеотиды, в частности, АТФ. PAMP в основном включают молекулы микробов, такие как липид А, флагеллин, липопротеины грамположительных и грамотрицательных бактерий, бактериальная ДНК, содержащая мотив CpG и фрагменты бактериального пептидогликана. Активация микроглии может осуществляться не только при появлении чужеродных молекул (например, компонентов клеточной стенки бактерий) или при критическом повышении концентрации специфических лигандов (например, внутриклеточных молекул или белковых агрегатов), которые, связываясь с PRR, активируют сигнальные внутриклеточные каскады, но также может возникать из-за отмены подавляющего сигнала ряда хемокинов и цитокинов: CD200-CD200 R, CX3CL1–CX3CR1 и SIRPα-CD47 при повреждении нейронов [31]. Нейротрансмиттеры, секретируемые нейрональными клетками, которые также оказывают подавляющее действие, поскольку клетки микроглии экспрессируют различные рецепторы нейротрансмиттеров через активацию, в частности, адренергических рецепторов или рецепторов ГАМК, переводят клетки микроглии в нейропротекторный фенотип, что вызывает развитие противовоспалительного ответа [31].

Клетки микроглии, в отличие от других клеток ЦНС, имеющие мезодермальное происхождение, занимают центральное место в развитии иммунного ответа в головном мозге, поскольку являются резидентными иммунокомпетентными клетками. В здоровом мозге клетки микроглии находятся в покое состоянии (фенотип M0), которое обеспечивается ингибирующим действием нейронов, а после активации происходит изменение их морфологии и функций. Активированная микроглия секретирует широкий спектр цитокинов и факторов роста, таких как IL-1, IL-10, TNF-α, TGF-β, которые вызывают активацию астроцитов, индукцию экспрессии молекул клеточной адгезии и привлечение Т-клеток в область повреждения. Активация этих клеток может также приводить к снижению прогрессирования нейродегенерации и стимуляции восстановления ЦНС, что определяется фенотипом этих клеток. Микроглия может находиться в различных состояниях активации и оказывать защитное (фенотип M2) или повреждающее (фенотип M1) действие в ЦНС. Однако стоит отметить, что концепция M0/M1/M2 является чрезмерно упрощенной. В более поздних исследованиях с использованием геномных и протеомных методов было идентифицировано, основываясь на транскриптомном профиле, по крайней мере, восемь фенотипов микроглии, которые составляют небольшую часть от общего числа фенотипов при нейродегенеративных заболеваниях [19, 32]. Предполагают, что в некоторых субпопуляциях микроглии, повышенное содержание которых наблюдается на определенных этапах развития нейровоспаления при различных нейропатологиях, не детектируется увеличение экспрессии TSPO, поэтому визуализация TSPO с помощью ПЭТ в этих случаях может привести к получению противоречивых результатов. То, что микроглия играет главную роль в нейроиммунном ответе, является точно установленным фактом, однако вопрос о том, в каких фенотипах микроглии увеличивается экспрессия TSPO, включая радиационно-индуцированное нейровоспаление, остается открытым.

Увеличение экспрессии TSPO в провоспалительной M1 микроглии убедительно подтверждено в исследованиях *in vitro*, в то время как однозначное мнение об уровне этого показателя в M2 микроглии отсутствует

[19]. Также было установлено, что лиганды TSPO: 2-Cl-MGV-1 (2-(2-хлорфенил)хиназолин-4-ил диметилкарбамат) и MGV-1 (2-фенилхиназолин-4-ил диметилкарбамат) обладают выраженным противовоспалительным действием, снижая уровни секреции провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF-α и IFN-γ клетками микроглии, активированными липополисахаридом (ЛПС) [33]. В многочисленных исследованиях *in vivo* методом ПЭТ с использованием радиоактивно-меченых лигандов регистрировался повышенный уровень TSPO в тех областях головного мозга, где наблюдалась активация микроглии, сопровождающаяся развитием нейровоспаления, при различных нейродегенеративных заболеваниях [19]. Несмотря на то, что динамика изменения уровня TSPO в глиальных клетках при этих заболеваниях окончательно не выяснена, есть общее понимание того, что повышение уровня TSPO является адаптивной реакцией клеток на воспаление и окислительный стресс, а не причиной нарушений функций митохондрий, внутриклеточной сигнализации и метаболизма клеток.

Увеличение экспрессии TSPO в глиальных клетках было зарегистрировано при различных повреждениях ЦНС, однако идентификация фенотипа клеток с повышенным уровнем TSPO, области их накопления в головном мозге и времени их появления после начала заболевания остаются неизученными. В исследовании, проведенном с помощью автордиографического анализа при использовании специфического радиолганда [¹¹C]DAA1106 на модели инсульта у крыс, уровень TSPO значительно увеличился через 3 сут после повреждения и достигал пика через 7 сут, что также подтверждалось данными двойного иммунофлуоресцентного окрашивания, причем повышенный уровень TSPO наблюдался как в клетках микроглии, так и в астроцитах, пролиферирующих в поврежденной ткани мозга [3]. Также в этом исследовании было установлено, что повышенная экспрессия TSPO в астроцитах наблюдалась во время активной миграции этих клеток к месту повреждения и образования глиального рубца, что необходимо для защиты окружающих тканей. После ограничения места повреждения глиальным рубцом повышенный уровень TSPO в области воспаления не определялся, несмотря на наличие высокого уровня GFAP-положительных клеток. Напротив, в клетках микроглии, локализованных в месте повреждения, высокий уровень TSPO регистрировался до 90 сут, несмотря на постепенное снижение количества амебоидной Iba1⁺-микроглии в период между 7 и 90-ми сутками [3].

Эти результаты подтверждают эффективность определения уровня TSPO для идентификации совокупной плотности активированных клеток микроглии, макрофагов и астроцитов, что является уникальным показателем, который невозможно получить, используя какой-либо другой маркер. Информативность TSPO как маркера нейровоспаления обусловлена тем, что клеточное микроокружение, участвующее в воспалительной реакции в ЦНС, не ограничено только клетками микроглии, а также включает и астроциты, и периферические иммунные клетки, обеспечивающие развитие адаптивного иммунного ответа.

Уровень экспрессии белка TSPO в клетках микроглии головного мозга при радиационно-индуцированном нейровоспалении

Нейровоспаление, вызванное активацией клеток микроглии и астроцитов, лежит в основе развития когнитивных дисфункций после действия ионизирующего излучения на головной мозг [13]. Активация микроглии

после облучения головного мозга может происходить из-за повреждения ДНК как в результате непосредственной ионизации молекулы, так и при действии АФК и свободных радикалов, образующихся в этих клетках в результате радиолитического распада воды [34]. При повреждении ДНК под действием облучения в клетках микроглии происходит активация факторов транскрипции, таких как NF- κ B, белок, связывающий цАМФ-чувствительный элемент (cAMP response element-binding protein, CREB) и активаторный белок AP-1 (activating protein 1, AP-1), что приводит к индукции экспрессии генов провоспалительных факторов, включая *IL-1 β* , *TNF- α* , циклооксигеназу 2 (COX-2) и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1/CCL2), и к увеличению содержания внутриклеточных АФК.

Действие ионизирующего излучения на ЦНС вызывает повреждение и гибель нейронов, уменьшая уровень подавляющих факторов, которые они секретируют для ингибирования микроглии, и приводит к увеличению содержания в мозге различных хемокинов, цитокинов, и АФК, которые активируют микроглию [2]. Показано, что облученные нейроны и эндотелиальные клетки секретируют HMGB1, АТФ и другие сигнальные молекулы, а в облученной микроглии повышается экспрессия TLR4, и комбинация этих факторов способствует активации микроглии [2]. Периферические иммунные клетки, проникающие в головной мозг после радиационно-индуцированного повреждения ГЭБ, секретируют АФК, которые, в свою очередь, активируют микроглию [35].

Микроглия и астроциты являются не только источниками, но и мишенями действия провоспалительных факторов [32]. Если острая воспалительная реакция в ЦНС не прекращается в короткий срок (в период облучения и до нескольких суток или недель после облучения), то в отдаленный период (через шесть и более месяцев) возникает хроническое нейровоспаление. Длительная гиперактивация глиальных клеток и чрезмерная нерегулируемая секреция провоспалительных факторов, которые приводят к снижению скорости восстановления нейронов, разрушению синапсов, окислительному стрессу и митохондриальной дисфункции нейронов и их предшественников, вызывает или ускоряет процесс нейродегенерации в отдаленный период после облучения. Адаптивный иммунный ответ с участием периферических иммунных клеток, инфильтрация которых вызвана хроническим воспалением и нарушением проницаемости ГЭБ, может дополнительно активировать процесс нейродегенерации.

После облучения изменяется уровень TSPO в глиальных клетках, поэтому этот белок является одним из перспективных маркеров для изучения нейровоспаления, вызванного действием ионизирующего излучения, в головном мозге [1, 13]. Исследователи, изучающие эффективность использования TSPO в качестве биомаркера радиационно-индуцированного повреждения ЦНС, опираются на несколько ранее доказанных явлений, а именно: что этот белок участвует в образовании АФК и развитии окислительного стресса, и что лиганды TSPO, например, РК11195 или Мидазолам (Midazolam) снижают экспрессию провоспалительных генов в клетках активированной микроглии после облучения [13].

В недавно проведенном исследовании изучали действие высоких и малых доз общего гамма-облучения на головной мозг и было показано, что общее облучение в дозе 0,01 Гр в течение 1-48 ч приводило к снижению уровней мРНК и белка TSPO, Iba1 в головном мозге, а также провоспалительного цитокина IL6 в плазме крови, а после облучения в дозе 2 Гр в это же время про-

исходило увеличение мРНК *Tspo* в мозге мышей линии C57BL/6 дикого типа и в первичной культуре микроглии [36]. Низкий уровень экспрессии TSPO в здоровом мозге, его снижение под действием малых доз ионизирующего излучения и повышение экспрессии TSPO при действии высоких доз (преимущественно в клетках микроглии) предполагают перспективность определения содержания этого белка для детекции нейровоспаления *in vivo* и *in vitro* после облучения головного мозга.

В исследованиях, посвященных изучению отдаленных эффектов после действия ионизирующего излучения на головной мозг, нами было изучено влияние общего гамма-облучения в дозах 0,1 Гр и 2 Гр на количество клеток микроглии с высокой экспрессией TSPO через 2 месяца после воздействия в мозге мышей линии C57BL/6 [37]. Состояние микроглии оценивали после окрашивания клеток, выделенных из мозга, определяя содержание популяций CD11b⁺/CD45^{low}, соответствующей покоящейся микроглии, и CD11b⁺/CD45^{high}, соответствующей активированной микроглии/макрофагам, а также популяции клеток с высокой экспрессией TSPO с помощью проточной цитометрии. Через 7 сут после общего гамма-облучения мышей в дозе 2 Гр CD11b⁺/CD45^{high} микроглии была повышена, но через 2 мес после облучения в дозах 0,1 Гр и 2 Гр не было обнаружено значимых различий в количестве CD11b⁺/CD45^{low} и CD11b⁺/CD45^{high} клеток микроглии у этих животных с контролем, в это же время нарушений поведения и когнитивных функций не отмечалось в обоих случаях. Содержание клеток с высокой экспрессией TSPO через 2 мес также не отличалось от контроля после облучения и в дозе 0,1 Гр, и 2 Гр, что свидетельствовало об отсутствии активированной микроглии и нейровоспаления, приводящего к когнитивным нарушениям в отдаленный период после действия облучения в этих дозах.

Изучение содержания уровня клеток с высокой экспрессией TSPO в динамике после гамма-облучения головы мышей линии C57BL/6 в дозах 2 и 8 Гр показало, что уровень клеток с высокой экспрессией TSPO в мозге у мышей, облученных в дозе 8 Гр, сохранялся достоверно повышенным по сравнению с контрольными животными и, облученными в дозе 2 Гр, от 3 сут до 6 мес после воздействия. Через 2 мес у животных, облученных в дозе 8 Гр при повышенном уровне клеток с высокой экспрессией TSPO по сравнению с облучением в дозе 2 Гр, регистрировались высокий уровень экспрессии мРНК *TNF- α* , *IL-6*, *IL-10* и увеличение содержания астроцитов в гиппокампе, а уровень мРНК *TGF- β* достоверно снижался, причем эти изменения сопровождались нарушением когнитивных функций [38, 39].

Таким образом, все накопленные к этому времени экспериментальные данные о действии высоких и малых доз гамма-излучения на экспрессию TSPO в ЦНС свидетельствуют о том, что этот маркер может рассматриваться как перспективный для ранней диагностики радиационно-индуцированного нейровоспаления, приводящего к развитию когнитивных нарушений.

Анализ уровня белка TSPO при нейродегенеративных заболеваниях и радиационно-индуцированном повреждении мозга с помощью лигандов с различной химической структурой и их использование для терапии

Было установлено, что с сайтом связывания с бензодиазепинами в белке TSPO в клетках активированной микроглии может взаимодействовать препарат [3H]PK11195 (1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide), который не

относится к бензодиазепинам. Этот радиолиганд первого поколения используется до настоящего времени в качестве диагностического маркера активации микроглии *in vivo*, а его распределение и накопление в головном мозге – в качестве инструмента визуализации нейровоспаления в клинической неврологии, но он обладает низкой биодоступностью в ЦНС и имеет высокий уровень неспецифического связывания [17]. Позже исследование экспрессии TSPO с помощью специфического связывания радиолигандов [³H]-PK11195 и [³H]-PBR28 на срезах мозга пациентов с рассеянным склерозом показало, что TSPO экспрессировался в клетках микроглии независимо от их фенотипа и не наблюдалось накопления радиолигандов преимущественно в провоспалительной микроглии или макрофагах [40]. При этом у пациентов с рассеянным склерозом и с БА выявлялось значительное увеличение TSPO-положительных астроцитов, составляющих до 25 % меченых клеток [40, 41]. Ограничением для исследования уровня TSPO с использованием радиолигандов второго поколения (PBR28) является их низкая аффинность к этому белку из-за наличия полиморфизма A147T TSPO у человека [18]. Другое ограничение для исследования уровня TSPO в мозге с помощью радиолигандов связано с тем, что TSPO экспрессируется во всех клетках ЦНС и нет области с полным отсутствием белка, что усложняет интерпретацию результатов исследований ПЭТ [42]. Наконец, есть основания полагать, что лиганды TSPO, имеющие гидрофобную структуру, могут связываться с белками плазмы и, следовательно, будут недоступны для связывания с TSPO, что тоже негативно влияет на точность результатов ПЭТ-сканирования [43]. В настоящее время ПЭТ с использованием радиоактивно меченных специфических лигандов к TSPO третьего поколения применяется для оценки процессов нейровоспаления в мозге у больных с психическими или неврологическими расстройствами, такими как болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, деменция, боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз, а также депрессия, шизофрения и биполярное расстройство [44]. Изучение содержания TSPO в различных клетках ЦНС на моделях с использованием экспериментальных животных и у людей в норме и при патологии будет способствовать лучшему пониманию последствий нарушений, вызванных нейровоспалением. Несмотря на то, что методом ПЭТ экспрессия TSPO была изучена при широком спектре нейродегенеративных заболеваний, содержание TSPO в головном мозге после действия ионизирующего излучения исследовано недостаточно. Эти исследования необходимы также для разработки подходов к терапии пациентов с нейродегенеративными заболеваниями и радиационно-индуцированным нейровоспалением, для диагностики которых лиганды TSPO будут применяться, так как получены результаты, подтверждающие возможность использования некоторых из этих лигандов как в качестве диагностических препаратов, так и для фармакологической коррекции нейровоспаления (табл. 1).

Анализ уровня белка TSPO в клетках периферической крови при радиационно-индуцированном нейровоспалении у экспериментальных животных

Несмотря на то, что научная и клиническая значимость исследований нейровоспаления методом ПЭТ с радиолигандами TSPO очевидна, этот метод клинической диагностики имеет довольно низкую специфичность. Так, было показано, что ПЭТ-анализ с использованием [¹⁸F]-FEPP не выявлял повышенной экспрессии TSPO у экспериментальных животных через 1 и 3 сут

после травмы мозга, в то время как регистрировалась активация микроглии и нейровоспаление, а значимое повышение экспрессии TSPO в головном мозге определялось методом проточной цитометрии [61].

В работе Kanegawa N. et al было исследовано связывание лиганда TSPO – [¹¹C]PBR28 в головном мозге и с иммунными клетками периферической крови у здоровых доноров, и обнаружена достоверная положительная корреляция, что позволило предположить наличие функциональной связи между этими клетками, например, общего регуляторного механизма [62].

Основываясь на том, что в периферической крови TSPO экспрессируется в моноцитах и полиморфноядерных нейтрофилах периферической крови [63], мы предположили, что изменение уровня TSPO во фракции моноцитов может коррелировать с изменением его уровня в активированных глиальных клетках после облучения мозга и отражать развитие нейровоспаления. Исследование изменения содержания клеток с высокой экспрессией TSPO во фракции моноцитов периферической крови облученных животных с помощью проточной цитометрии позволило выявить схожую динамику с изменением содержания таких клеток микроглии в мозге в период до 6 мес после воздействия [38]. При этом значимое по сравнению с необлученным контролем увеличение количества клеток с высокой экспрессией белка TSPO во фракции моноцитов через 3 сут, 1 и 2 мес после облучения коррелировало с увеличением количества TSPO^{high} клеток микроглии в суспензии клеток мозга. Полученные данные позволяют нам предположить, что увеличение количества клеток с высокой экспрессией белка TSPO во фракции моноцитов периферической крови через 3 сут, 1 и 2 мес может отражать общую реакцию клеток периферической иммунной системы и глиальных клеток в мозге на общие регуляторные гуморальные факторы, в том числе цитокины и хемокины, секретлируемые активированными клетками мозга в ответ на облучение.

Таким образом, если обнаруженная связь между периферической иммунной системой и иммунной системой ЦНС лежит в основе корреляции между изменением уровня TSPO в клетках периферической крови и микроглии в головном мозге, то определение изменения уровня TSPO в моноцитах периферической крови с помощью проточной цитометрии может стать простым и чувствительным методом детекции развития нейровоспаления и контроля эффективности его лечения.

В ряде исследований продемонстрировано, что некоторые маркеры нейровоспаления, уровень которых повышается в мозге после облучения, обнаруживаются также в церебральной жидкости или в крови у пациентов. Радиационно-индуцированное воспаление в ЦНС сопровождается повышением активности различных провоспалительных медиаторов, в том числе цитокинов и факторов роста, включая TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, индуцибельной синтазы оксида азота, молекул адгезии ICAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) и VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), матриксной металлопротеиназы MMP-9 (matrix metalloproteinase 9), MCP1, причем наблюдается как повышение экспрессии их генов, так и уровня этих белков в коре и гиппокампе. Все перечисленные маркеры нейровоспаления были обнаружены в образцах крови пациентов после прохождения курса лучевой терапии опухолей [64]. При нарушении целостности ГЭБ в периферической крови обнаруживаются биомаркеры, отражающие процессы активации или повреждения клеток нервной ткани после действия облучения: активации астроцитов – GFAP, активации

Таблица 1

**Химическая структура и использование лигандов TSPO
в экспериментальных и клинических исследованиях**
Chemical structure and application of TSPO ligands in experimental and clinical studies

Лиганд TSPO	Химическая структура	Экспериментальные и клинические подходы с использованием лигандов TSPO
Ro5-4864	Производное бензодиазепина	Исследования накопления радиолиганда первого поколения [¹¹ C]Ro5-4864 у пациентов с глиомами не продемонстрировали различий в уровнях накопления радиофармпрепарата в опухолях и в здоровых областях мозга [17]. Несмотря на нейропротективный эффект Ro5-4864 в экспериментальных моделях повреждения мозга [45], его клиническое применение оказалось неприемлемо из-за эпилептогенных свойств [46].
PK11195	Производное изохинолина	Радиолиганд первого поколения, который широко используется в клинических исследованиях для диагностики нейровоспаления при различных нейродегенеративных патологиях [17]. Увеличение накопления ¹¹ C-PK11195 в базальных ганглиях, таламусе, стволе мозга и лобных, височных и корковых областях головного мозга пациентов с БП положительно коррелировало со степенью нарушений моторики [44]. У пациентов с БА наблюдалось повышение связывания ¹¹ C-PK11195 на 30 % по сравнению с контрольной группой [44]. Более высокое поглощение [¹¹ C]PK11195 наблюдалось у животных на 3-и сут после облучения головы в дозе 25 Гр, по сравнению с необлученным контролем в большинстве областей мозга, причем через 31 сут все еще детектировалось более высокое накопление радиофармпрепарата, чем в контрольной группе и группе, облученной в дозе 10 Гр [47]. Введение PK-11195 животным с нейровоспалением, вызванным действием ЛПС, приводило к снижению экспрессии генов провоспалительных факторов [48].
SSR180575	Производное индол ацетамида	Радиолиганд второго поколения, обладает высоким сродством к TSPO, но низкой аффинностью к полиморфному варианту rs697 [49]. Было обнаружено, что SSR180575 способствовал выживанию и регенерации нейронов в экспериментах на животных моделях асцитомии и невропатии [50]. Авторадиография <i>in vitro</i> и ПЭТ-визуализация головного мозга <i>in vivo</i> продемонстрировали более эффективное накопление [¹¹ C]SSR180575 в областях головного мозга с высоким уровнем экспрессии TSPO по сравнению с другими участками [51, 52].
DAA1106 PBR28 FEPPA	Производные фенокси-акрил-ацетамида	Радиолиганды второго поколения, с низкой аффинностью к полиморфному варианту rs6971. В головном мозге пациентов с БА наблюдалось более высокое накопление [¹¹ C]DAA1106 по сравнению с контрольной группой [53]. ¹¹ C-PBR28 более эффективно детектировался у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой во всех исследуемых отделах головного мозга [22], а также с помощью этого лиганда выявлялась активация глияльных клеток в моторной коре у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом [20] и нейровоспаление у пациентов с рассеянным склерозом [23]. Значимое увеличение связывания ¹⁸ F-FEPPA у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой детектировалось в сером (гиппокамп, височная, префронтальная, теменная и затылочная кора) и белом веществе, причем наблюдалась взаимосвязь между высоким уровнем связывания радиолиганда и когнитивными нарушениями [21].
CB251 Zolpidem	Производныеимидазо-пиридина	В экспериментах <i>in vitro</i> [¹⁸ F]CB251 продемонстрировал высокую аффинность к TSPO независимо от генотипа, а также с помощью ПЭТ/МРТ позволял выявлять нейровоспаление в мозге мышей, которым вводили ЛПС [54]. В 23 опубликованных результатах исследования и 6 клинических испытаниях действия препарата Zolpidem, выполненных в течение 15 лет, продемонстрирована связь между дозой препарата, не вызывающей седативного эффекта, и восстановлением повреждений головного мозга в результате инсультов, травм и гипоксии [55].
GE-180	Производное тетрагидро-карбазола	Увеличение накопления [¹⁸ F]GE-180 у пациентов с кавернозными мальформациями головного мозга продемонстрировало эффективность использования этого лиганда третьего поколения в качестве маркера нейровоспаления [56].
XBD173 (Emapunil), ZBD-2	Производные пурина	Введение экспериментальным животным XBD173 (AC-5216, Emapunil) приводило к снижению содержания активированной микроглии, которое сопровождалось уменьшением нейродегенерации [57]. ZBD-2 оказывал нейропротективное действие у мышей с окклюзией средней мозговой артерии [58].
ER176, 2-Cl-MGV-1, MGV-1	Производные хиназолина	[¹¹ C]ER176 (третье поколение лигандов TSPO) в настоящее время считается наиболее эффективным радиолигандом для визуализации нейровоспалений при нейродегенеративных патологиях [42]. 2-Cl-MGV-1, MGV-1 могут быть перспективными препаратами для лечения нейропатологических состояний из-за их способности подавлять активацию микроглии и снижать секрецию провоспалительных факторов [33].
Etifoxine hydrochloride	Производное бензоксазина	Etifoxine hydrochloride (Stresam®) в настоящее время используется в клинической практике для лечения тревожных расстройств [59]. Исследование действия радиоактивно-меченного препарата Etifoxine, выявило защитные эффекты на моделях травмы головного мозга и БА [60].

эндотелиальных клеток – VEGF (vascular endothelial growth factor), VCAM-1 и ICAM-1, повреждения эндотелиальных клеток и нейронов – нейрон-специфическая энтолаза (neuron-specific enolase), S100 кальцийсвязывающий белок В (S100 calcium-binding protein), демиелинизации – антитела к аквапорино-4, основной белок миелина (myelin basic protein). Исследования таких биомаркеров, как нейронспецифичный фермент убиквитин С-концевая гидролаза, фрагмент протеолитического расщепления рецептора N-метил-D-аспартата (NMDA) или антитела к NMDA-рецептору, предшественник эндоте-

лиального активирующего моноциты полипептида-II (p43/pro-EMAPII), нитротирозин, а также оксистерин в спинномозговой жидкости в плазме, показали, что их уровни могут коррелировать с повреждением головного мозга после облучения [64].

Однако маркеры повреждения клеток нервной ткани и демиелинизации в большей степени характерны для радиационного некроза, а вызванное облучением снижение когнитивных функций происходит при дозах, значительно меньших, чем те, которые могут вызвать радионекроз [65]. Использование в качестве биомаркеров от-

даленных последствий радиационно-индуцированного повреждения ЦНС медиаторов воспаления может быть ограничено из-за двойственной роли воспалительных процессов после облучения, так как воспаление может быть защитной реакцией нервной ткани, и изменение уровня медиаторов воспаления может указывать не только на неблагоприятный исход, но и на благоприятный. Несмотря на то, что ряде исследований продемонстрировано повышение провоспалительных цитокинов в крови у пациентов с нейродегенеративными патологиями, также было показано, что периферические иммунные профили не обязательно репрезентативны тем, которые наблюдаются в ЦНС, из-за влияния факторов системного воспаления [66]. Поэтому исследование изменения уровня TSPO в моноцитах периферической крови пациентов после лучевой терапии опухолей мозга и области головы и шеи, а также при различных нейродегенеративных заболеваниях может быть дополнительным чувствительным маркером нейровоспаления, ассоциированного с когнитивными дисфункциями.

Заключение

Появление нейровоспаления, вызванного облучением или действием на головной мозг других повреждающих факторов, важно выявлять на пресимптоматических этапах, поскольку оно возникает на ранних стадиях нейродегенеративных нарушений. Поэтому для контроля прогрессирования патологических процессов в ЦНС и оценки эффективности потенциальных методов лечения, направленных на подавление нейровоспаления, важно иметь соответствующие маркеры и возможность их неоднократного анализа в динамике заболевания.

Индукцируемая экспрессия TSPO в клетках активированной микроглии – резидентных иммунных клетках мозга, – является ранним индикатором развивающегося нейровоспаления ЦНС, приводящего к возникновению когнитивного дефицита. Поэтому использование TSPO в качестве биомаркера повреждения ткани мозга и активации микроглии после облучения может позволить до появления клинических симптомов диагностировать нейровоспаление и прогнозировать развитие нарушений функций мозга на ранних стадиях после действия на ЦНС ионизирующего излучения. Многие радиоактивно меченные лиганды TSPO разработаны для визуализации области воспаления *in vivo* и верифицированы для использования в диагностике много лет назад. Несмотря на сказанное, и в настоящее время это направление остается одним из самых актуальных в области биомедицинских исследований, направленных на поиск новых высокоспецифических маркеров активации глиальных клеток.

Обнаруженное нами увеличение клеток с высокой экспрессией TSPO во фракции моноцитов периферической крови после облучения мозга коррелирует с повы-

шением содержания клеток активированной микроглии с провоспалительным фенотипом, что позволяет рассматривать этот показатель в качестве перспективного раннего маркера для диагностики нейровоспаления, вызванного действием облучения и приводящего к когнитивному дефициту. Поэтому исследование изменения уровня TSPO во фракции моноцитов периферической крови пациентов после лучевой терапии опухолей мозга и области головы и шеи, а также при различных нейродегенеративных заболеваниях может оказаться незаменимым показателем для мониторинга активации глиальных клеток в ЦНС после воздействия и оценки развития нейровоспаления, ассоциированного с когнитивными дисфункциями в отдаленный период после облучения.

Таким образом, современные представления о структуре TSPO стали основой для создания дизайнов новых терапевтических и диагностических препаратов на основе синтетических лигандов этого белка. Использование для исследований методом ПЭТ радиолигандов TSPO первого поколения было недостаточно специфично, а специфичность лигандов второго поколения зависела от полиморфизма *Tspo*, что стимулировало создание диагностических препаратов – лигандов третьего поколения, эффективность которых была одинаковой для всех полиморфных вариантов этого белка, а специфичность – более высокой. Исследование эффективности новых соединений этого ряда будет способствовать совершенствованию методов диагностики с использованием ПЭТ и лечения пациентов с нейродегенеративными патологиями, особенно тех, которые развиваются в отдаленный период после лучевой терапии и приводят к появлению когнитивных нарушений у пациентов.

Сочетание биохимических методов анализа сывороточных маркеров повреждения ЦНС и уровня TSPO в моноцитах крови с функциональными методами визуализации позволит оптимизировать диагностику отдаленных последствий лучевой терапии опухолей мозга, вызванных радиационно-индуцированным воспалением, и обеспечит повышение информативности исследования благодаря расширению панели анализируемых показателей.

Анализ современной литературы свидетельствует о том, что возможность регистрации нейровоспаления по повышению уровня экспрессии TSPO в клетках периферической крови позволит использовать этот белок в качестве диагностического и прогностического маркера пострадиационных осложнений. Доступность исследования уровня TSPO в моноцитах, в том числе и одновременно с определением сывороточных маркеров воспаления и повреждения клеток ЦНС, определяет перспективность его использования в качестве биомаркера для мониторинга радиационно-индуцированного нейровоспаления и прогнозирования ответа пациента на терапию.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Betlazar C, Middleton RJ, Banati RB, Liu GJ. The Impact of High and Low Dose Ionising Radiation on the Central Nervous System. *Redox Biol.* 2016;9:144-56. doi: 10.1016/j.redox.2016.08.002.
2. Liu Q, Huang Y, Duan M, Yang Q, Ren B, Tang F. Microglia as Therapeutic Target for Radiation-Induced Brain Injury. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022;23(15). doi: 10.3390/ijms23158286.
3. Maeda J, Higuchi M, Inaji M, Ji B, Haneda E, Okauchi T, et al. Phase-Dependent Roles of Reactive Microglia and Astrocytes in Nervous System Injury as Delineated by Imaging of Peripheral Benzodiazepine Receptor. *Brain Research.* 2007;1157:100-11. doi: 10.1016/j.brainres.2007.04.054.
4. Betlazar C, Middleton RJ, Banati R, Liu GJ. The Translocator Protein (TSPO) in Mitochondrial Bioenergetics and Immune Processes. *Cells.* 2020;9(2). doi: 10.3390/cells9020512.
5. Braestrup C, Squires RF. Specific Benzodiazepine Receptors in Rat Brain Characterized by High-Affinity (3h)Diazepam Binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1977;74(9):3805-9. doi: 10.1073/pnas.74.9.3805.
6. Mukhin AG, Papadopoulos V, Costa E, Krueger KE. Mitochondrial Benzodiazepine Receptors Regulate Steroid Biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1989;86(24):9813-6. doi: 10.1073/pnas.86.24.9813.

7. Sprengel R, Werner P, Seeburg PH, Mukhin AG, Santi MR, Grayson DR, et al. Molecular Cloning and Expression of cDNA Encoding a Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor. *The Journal of Biological Chemistry*. 1989;264(34):20415-21. doi:
8. Gatliff J, Campanella M. TSPO: Kaleidoscopic 18-Kda Amid Biochemical Pharmacology, Control and Targeting of Mitochondria. *The Biochemical Journal*. 2016;473(2):107-21. doi: 10.1042/bj20150899.
9. Li F, Liu J, Liu N, Kuhn LA, Garavito RM, Ferguson-Miller S. Translocator Protein 18 kDa (TSPO): an Old Protein with New Functions? *Biochemistry*. 2016;55(20):2821-31. doi: 10.1021/acs.biochem.6b00142.
10. Papadopoulos V, Fan J, Zirkin B. Translocator Protein (18 kDa): an Update on its Function in Steroidogenesis. *Journal of Neuroendocrinology*. 2018;30(2). doi: 10.1111/jne.12500.
11. Betlazar C, Harrison-Brown M, Middleton RJ, Banati R, Liu GJ. Cellular Sources and Regional Variations in the Expression of the Neuroinflammatory Marker Translocator Protein (TSPO) in the Normal Brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(9). doi: 10.3390/ijms19092707.
12. Notter T, Schalbetter SM, Clifton NE, Mattei D, Richetto J, Thomas K, et al. Neuronal Activity Increases Translocator Protein (TSPO) Levels. *Molecular Psychiatry*. 2021;26(6):2025-37. doi: 10.1038/s41380-020-0745-1.
13. Boyd A, Byrne S, Middleton RJ, Banati RB, Liu GJ. Control of Neuroinflammation through Radiation-Induced Microglial Changes. *Cells*. 2021;10(9). doi: 10.3390/cells10092381.
14. Milenkovic VM, Slim D, Bader S, Koch V, Heintz ES, Alvarez-Carbonell D, et al. CRISPR-Cas9 Mediated TSPO Gene Knockout alters Respiration and Cellular Metabolism in Human Primary Microglia Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(13). doi: 10.3390/ijms20133359.
15. Loth MK, Guariglia SR, Re DB, Perez J, de Paiva VN, Dziedzic JL, et al. A Novel Interaction of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) with NADPH Oxidase in Microglia. *Mol Neurobiol*. 2020;57(11):4467-87. doi: 10.1007/s12035-020-02042-w.
16. Lee Y, Park Y, Nam H, Lee JW, Yu SW. Translocator Protein (TSPO): the New Story of the Old Protein in Neuroinflammation. *BMB Reports*. 2020;53(1):20-7. doi: 10.5483/BMBRep.2020.53.1.273.
17. Liu GJ, Middleton RJ, Hatty CR, Kam WW, Chan R, Pham T, et al. The 18 kDa Translocator Protein, Microglia and Neuroinflammation. *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*. 2014;24(6):631-53. doi: 10.1111/bpa.12196.
18. Owen DR, Yeo AJ, Gunn RN, Song K, Wadsworth G, Lewis A, et al. An 18-kDa Translocator Protein (TSPO) Polymorphism Explains Differences in Binding Affinity of the PET Radioligand PBR28. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(1):1-5. doi: 10.1038/jcbfm.2011.147.
19. Werry EL, Bright FM, Piguet O, Ittner LM, Halliday GM, Hodges JR, et al. Recent Developments in TSPO PET Imaging as a Biomarker of Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(13). doi: 10.3390/ijms20133161.
20. Zürcher NR, Loggia ML, Lawson R, Chonde DB, Izquierdo-Garcia D, Yasek JE, et al. Increased in Vivo Glial Activation in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: Assessed with [(11)C]-PBR28. *NeuroImage Clinical*. 2015;7:409-14. doi: 10.1016/j.nicl.2015.01.009.
21. Suridjan I, Pollock BG, Verhoeff NP, Voineskos AN, Chow T, Rusjan PM, et al. In-Vivo Imaging of Grey and White Matter Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: a Positron Emission Tomography Study with a Novel Radioligand, [18F]-FEPPA. *Mol Psychiatry*. 2015;20(12):1579-87. doi: 10.1038/mp.2015.1.
22. Kreisl WC, Lyoo CH, McGwier M, Snow J, Jenko KJ, Kimura N, et al. In Vivo Radioligand Binding to Translocator Protein Correlates with Severity of Alzheimer's Disease. *Brain: a Journal of Neurology*. 2013;136(Pt 7):2228-38. doi: 10.1093/brain/awt145.
23. Datta G, Colasanti A, Kalk N, Owen D, Scott G, Rabiner EA, et al. (11)C-PBR28 and (18)F-PBR111 Detect White Matter Inflammatory Heterogeneity in Multiple Sclerosis. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*. 2017;58(9):1477-82. doi: 10.2967/jnumed.116.187161.
24. Da Pozzo E, Costa B, Martini C. Translocator Protein (TSPO) and Neurosteroids: Implications in Psychiatric Disorders. *Current Molecular Medicine*. 2012;12(4):426-42. doi: 10.2174/156652412800163451.
25. Rupprecht R, Rammes G, Eser D, Baghai TC, Schüle C, Nothdurfter C, et al. Translocator Protein (18 kD) as Target for Anxiolytics without Benzodiazepine-Like Side Effects. *Science (New York, NY)*. 2009;325(5939):490-3. doi: 10.1126/science.1175055.
26. Costa B, Pini S, Martini C, Abelli M, Gabelloni P, Landi S, et al. Ala147Thr Substitution in Translocator Protein is Associated with Adult Separation Anxiety in Patients with Depression. *Psychiatric Genetics*. 2009;19(2):110-1. doi: 10.1097/YPG.0b013e32832080f6.
27. Owen DR, Fan J, Campioli E, Venugopal S, Midzak A, Daly E, et al. TSPO Mutations in Rats and a Human Polymorphism Impair the Rate of Steroid Synthesis. *The Biochemical Journal*. 2017;474(23):3985-99. doi: 10.1042/bj20170648.
28. Prossin AR, Chandler M, Ryan KA, Saunders EF, Kamali M, Papadopoulos V, et al. Functional TSPO Polymorphism Predicts Variance in the Diurnal Cortisol Rhythm in Bipolar Disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2018;89:194-202. doi: 10.1016/j.psychneuen.2018.01.013.
29. Guo Y, Kalathur RC, Liu Q, Kloss B, Bruni R, Ginter C, et al. Protein Structure, Structure and Activity of Tryptophan-Rich TSPO Proteins. *Structure (New York, NY)*. 2015;347(6221):551-5. doi: 10.1126/science.aaa1534.
30. Batarseh A, Papadopoulos V. Regulation of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) Expression in Health and Disease States. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010;327(1-2):1-12. doi: 10.1016/j.mce.2010.06.013.
31. Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: Active Sensor and Versatile Effector Cells in The Normal and Pathologic Brain. *Nature Neuroscience*. 2007;10(11):1387-94. doi: 10.1038/nn1997.
32. Gao C, Jiang J, Tan Y, Chen S. Microglia in Neurodegenerative Diseases: Mechanism and Potential Therapeutic Targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2023;8(1):359. doi: 10.1038/s41392-023-01588-0.
33. Monga S, Nagler R, Amara R, Weizman A, Gavish M. Inhibitory Effects of the Two Novel TSPO Ligands 2-Cl-MGV-1 and MG-1 on LPS-induced Microglial Activation. *Cells*. 2019;8(5). doi: 10.3390/cells8050486.
34. Turnquist C, Harris BT, Harris CC. Radiation-Induced Brain Injury: Current Concepts and Therapeutic Strategies Targeting Neuroinflammation. *Neuro-oncology Advances*. 2020;2(1):vdaa057. doi: 10.1093/naojnl/vdaa057.
35. Hladik D, Tapio S. Effects of Ionizing Radiation on the Mammalian Brain. *Mutation Research Reviews in Mutation Research*. 2016;770(Pt B):219-30. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.08.003.
36. Betlazar C, Middleton RJ, Howell N, Storer B, Davis E, Davies J, et al. Mitochondrial Translocator Protein (TSPO) Expression in the Brain after Whole Body Gamma Irradiation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;9:715444. doi: 10.3389/fcell.2021.715444.
37. Родина АВ, Семочкина ЮП, Копалева МЮ, Стрелетов АН, Сафронов ВВ, Москалева ЕЮ. Состояние микроглии и когнитивные функции у мышей в отдаленный период после сочетанного действия низких доз гамма- и гамма-нейтронного излучения // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2019. Т.53, №4. С. 65-73. [Rodina AV, Semochkina UP, Kopaeva MY, Strelotov AN, Safronov VV, Moskaleva EY. The State of Microglia and Cognitive Functions in Mice in the Long-Term Period after Combined Exposure to Low Doses of Gamma and Gamma Neutron Radiation. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina*. 2019;53(4):65-73 (In Russ.).]
38. Rodina AV, Semochkina YP, Vysotskaya OV, Parfenova AA, Moskaleva EY. Radiation-induced Neuroinflammation Monitoring by the Level of Peripheral Blood Monocytes with High Expression of Translocator Protein. *Int J Radiat Biol*. 2023;99(9):1364-77. doi: 10.1080/09553002.2023.2177765.
39. Zhirnik AS SO, Semochkina JP, Shibaeva KD, Rodina AV, Ratushnyak MG, Moskaleva EJ. Cognitive Impairment and Induction of Neuroinflammation in the Late Period after Single Whole Brain γ -Irradiation of Mice. *Radiatsionnaya Biologiya Radioekologiya*. 2021;61(1):32-43.
40. Nutma E, Stephenson JA, Gorter RP, de Bruin J, Boucherie DM, Donat CK, et al. A Quantitative Neuropathological Assessment of Translocator Protein Expression in Multiple Sclerosis. *Brain: a Journal of Neurology*. 2019;142(11):3440-55. doi: 10.1093/brain/awz287.
41. Gui Y, Marks JD, Das S, Hyman BT, Serrano-Pozo A. Characterization of the 18 kDa Translocator Protein (TSPO) Expression in Post-Mortem Normal and Alzheimer's Disease Brains. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*. 2020;30(1):151-64. doi: 10.1111/bpa.12763.
42. Kreisl WC, Kim MJ, Coughlin JM, Henter ID, Owen DR, Innis RB. PET Imaging of Neuroinflammation in Neurological Disorders. *Lancet Neurol*. 2020;19(11):940-50. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30346-X.
43. Nettis MA, Veronese M, Nikkheslat N, Mariani N, Lombardo G, Sforzini L, et al. PET Imaging Shows No Changes in TSPO Brain Density after IFN- α Immune Challenge in Healthy Human Volunteers. *Transl Psychiatry*. 2020;10(1):89. doi: 10.1038/s41398-020-0768-z.
44. Dupont AC, Largeau B, Santiago Ribeiro MJ, Guilloteau D, Tronel C, Arlicot N. Translocator Protein-18 kDa (TSPO) Positron Emission Tomography (PET) Imaging and its Clinical Impact in Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(4). doi: 10.3390/ijms18040785.
45. Soustiel JF, Zaaroor M, Vlodayevsky E, Veenman L, Weizman A, Gavish M. Neuroprotective Effect of Ro5-4864 Following Brain Injury. *Experimental Neurology*. 2008;214(2):201-8. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.08.008.
46. Shiotani T, Nakamoto Y, Watabe S, Yoshii M, Nabeshima T. Anticonvulsant Actions of Nefiracetam on Epileptic EL Mice and Their Relation to Peripheral-Type Benzodiazepine Receptors. *Brain Research*. 2000;859(2):255-61. doi: 10.1016/s0006-8993(00)01971-5.
47. Parente A, de Vries EFJ, van Waarde A, Ioannou M, van Luijk P, Langendijk JA, et al. The Acute and Early Effects of Whole-Brain Irra-

- diation on Glial Activation, Brain Metabolism, and Behavior: a Positron Emission Tomography Study. *Molecular Imaging and Biology*. 2020;22(4):1012-20. doi: 10.1007/s11307-020-01483-y.
48. Ma L, Zhang H, Liu N, Wang PQ, Guo WZ, Fu Q, et al. TSPO Ligand PK11195 Alleviates Neuroinflammation and Beta-Amyloid Generation Induced by Systemic LPS Administration. *Brain Research Bulletin*. 2016;121:192-200. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.02.001.
 49. Scarf AM, Ittner LM, Kassiou M. The Translocator Protein (18 kDa): Central Nervous System Disease and Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2009;52(3):581-92. doi: 10.1021/jm8011678.
 50. Ferzaz B, Brault E, Bourliaud G, Robert JP, Poughon G, Claustre Y, et al. SSR180575 (7-chloro-N,N,5-trimethyl-4-oxo-3-phenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indole-1-acetamide), a Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand, Promotes Neuronal Survival and Repair. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2002;301(3):1067-78. doi: 10.1124/jpet.301.3.1067.
 51. Thominiaux C, Damont A, Kuhnast B, Demphel S, Le Helleix S, Boissard S, et al. Radiosynthesis of 7-chloro-N,N-dimethyl-5-[11C]methyl-4-oxo-3-phenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indole-1-acetamide, [11C]SSR180575, a Novel Radioligand for Imaging the TSPO (peripheral benzodiazepine receptor) with PET. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. 2010;53(13):767-73. doi: <https://doi.org/10.1002/jlcr.1794>.
 52. Chauveau F, Boutin H, Van Camp N, Thominiaux C, Hantraye P, Rivron L, et al. In Vivo Imaging of Neuroinflammation in the Rodent Brain with [11C]SSR180575, a Novel Indoleacetamide Radioligand of the Translocator Protein (18 kDa). *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(3):509-14. doi: 10.1007/s00259-010-1628-5.
 53. Yasuno F, Ota M, Kosaka J, Ito H, Higuchi M, Doronbekov TK, et al. Increased Binding of Peripheral Benzodiazepine Receptor in Alzheimer's Disease Measured by Positron Emission Tomography with [11C]DAA1106. *Biological Psychiatry*. 2008;64(10):835-41. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.04.021.
 54. Kim K, Kim H, Bae S-H, Lee S-Y, Kim Y-H, Na J, et al. CB251 PET/MR Imaging Probe Targeting Translocator Protein (TSPO) Independent of its Polymorphism in a Neuroinflammation Model. *Theranostics*. 2020;10(20):9315-31. doi: 10.7150/thno.46875.
 55. Sutton JA, Clauss RP. A Review of the Evidence of Zolpidem Efficacy in Neurological Disability after Brain Damage Due to Stroke, Trauma and Hypoxia: a Justification of Further Clinical Trials. *Brain Injury*. 2017;31(8):1019-27. doi: 10.1080/02699052.2017.1300836.
 56. Fan Z, Calsolaro V, Atkinson RA, Femminella GD, Waldman A, Buckley C, et al. Flutriciclamide (18F-GE180) PET: First-in-Human PET Study of Novel Third-Generation In Vivo Marker of Human Translocator Protein. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*. 2016;57(11):1753-9. doi: 10.2967/jnumed.115.169078.
 57. Scholz R, Caramoy A, Bhuckory MB, Rashid K, Chen M, Xu H, et al. Targeting Translocator Protein (18 kDa) (TSPO) Dampens Pro-Inflammatory Microglia Reactivity in the Retina and Protects from Degeneration. *Journal of Neuroinflammation*. 2015;12(1):201. doi: 10.1186/s12974-015-0422-5.
 58. Li XB, Guo HL, Shi TY, Yang L, Wang M, Zhang K, et al. Neuroprotective Effects of a Novel Translocator Protein (18 kDa) Ligand, ZBD-2, against Focal Cerebral Ischemia and NMDA-Induced Neurotoxicity. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*. 2015;42(10):1068-74. doi: 10.1111/1440-1681.12460.
 59. Stein DJ. Etfioxine Versus Alprazolam for the Treatment of Adjustment Disorder with Anxiety: a Randomized Controlled Trial. *Advances in Therapy*. 2015;32(1):57-68. doi: 10.1007/s12325-015-0176-6.
 60. Barron AM, Garcia-Segura LM, Caruso D, Jayaraman A, Lee JW, Melcangi RC, et al. Ligand for Translocator Protein Reverses Pathology in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci*. 2013;33(20):8891-7. doi: 10.1523/jneurosci.1350-13.2013.
 61. Delage C, Vignal N, Guerin C, Taib T, Barboteau C, Mamma C, et al. From Positron Emission Tomography to Cell Analysis of the 18-kDa Translocator Protein in Mild Traumatic Brain Injury. *Sci Rep*. 2021;11(1):24009. doi: 10.1038/s41598-021-03416-3.
 62. Kanegawa N, Collste K, Forsberg A, Schain M, Arakawa R, Jucaite A, et al. In Vivo Evidence of a Functional Association Between Immune Cells in Blood and Brain in Healthy Human Subjects. *Brain Behav Immun*. 2016;54:149-57. doi: 10.1016/j.bbi.2016.01.019.
 63. Canat X, Carayon P, Bouaboula M, Cahard D, Shire D, Roque C, et al. Distribution Profile and Properties of Peripheral-Type Benzodiazepine Receptors on Human Hemopoietic Cells. *Life Sci*. 1993;52(1):107-18. doi: 10.1016/0024-3205(93)90293-c.
 64. Sultana N, Sun C, Katsube T, Wang B. Biomarkers of Brain Damage Induced by Radiotherapy. Dose-response: a Publication of International Hormesis Society. 2020;18(3):1559325820938279. doi: 10.1177/1559325820938279.
 65. Makale MT, McDonald CR, Hattangadi-Gluth JA, Kesari S. Mechanisms of Radiotherapy-Associated Cognitive Disability in Patients with Brain Tumours. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(1):52-64. doi: 10.1038/nrneuro.2016.185.
 66. Engler H, Brendt P, Wischermann J, Wegner A, Rohling R, Schoenberg T, et al. Selective Increase of Cerebrospinal Fluid IL-6 during Experimental Systemic Inflammation in Humans: Association with Depressive Symptoms. *Mol Psychiatry*. 2017;22(10):1448-54. doi: 10.1038/mp.2016.264.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Участие авторов. Статья подготовлена с одним участием автора.

Поступила: 20.01.2024. **Принята к публикации:** 27.02.2024.

Conflict of interest. The author declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out within the state assignment of NRC «Kurchatov institute».

Contribution. The article was prepared with the sole participation of the author.

Article received: 20.01.2024. **Accepted for publication:** 27.02.2024.