

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи



Волкова Анна Александровна

**ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СИНТЕТИЧЕСКИХ
НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНАЛОГОВ НЕЙРОТРОФИНОВ NGF И BDNF В
МОДЕЛЯХ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

Специальность 1.5.5 – физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Научный руководитель:

Аббасова Кенул Расим кызы – кандидат биологических наук

Каменский Андрей Александрович – доктор биологических наук, профессор
--

Официальные оппоненты:

Кост Наталия Всеволодовна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья», лаборатория патофизиологии, главный научный сотрудник

Золотов Николай Николаевич – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», лаборатория психофармакологии, главный научный сотрудник

Ловать Максим Львович – кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, лаборатория сравнительной физиологии высшей нервной деятельности животных, ведущий научный сотрудник

Защита состоится «18» декабря 2023 года в 17 ч. 00 мин. на заседании диссертационного совета МГУ.015.7 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: РФ, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр. 12, биологический факультет МГУ, аудитория М-1.

e-mail: bellaum@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (Фундаментальная библиотека, Ломоносовский просп., д.27) сайте ИАС «Истина»: <https://istina.msu.ru/dissertations/602306948/> и на сайте Диссовет 2.0: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/015.7/2724>

Автореферат разослан «16» ноября 2023 года

Ученый секретарь диссертационного совета МГУ.015.7,
доктор биологических наук

Б.А. Умарова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень проработанности проблемы

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) болезнь Альцгеймера (БА) является причиной от 60 до 80% случаев деменции. Несмотря на активную разработку и исследование множества лекарств и методов лечения, единственными препаратами, одобренными в настоящее время для терапии БА, являются ингибиторы ацетилхолинэстеразы и антагонисты NMDA-рецепторов (мемантин) (Pilipovich et al., 2019). БА является чрезвычайно сложным и необратимым нейродегенеративным заболеванием, на которое влияют как генетические факторы, так и факторы окружающей среды (Andrews et al., 2020; Oudin, 2020; Zhang et al., 2021). Однако патогенетическая терапия отсутствует, современные лекарства малоэффективны и могут только облегчить симптомы, а не остановить или замедлить нейродегенерацию (Alzheimer's Association, 2019). В связи с этим существует острая необходимость в исследованиях и разработке новых препаратов для терапии БА. Это особенно актуально в связи с предполагаемым ростом заболеваемости БА, обусловленным увеличением продолжительности жизни (Dumurgier et al., 2020).

В последние два десятилетия в качестве новых стратегий терапии нейродегенеративных заболеваний рассматривается регуляция рецепторов нейротрофинов, в частности и фактора роста нервов (nerve growth factor, NGF) и мозгового нейротрофического фактора (brain-derived neurotrophic factor, BDNF). NGF и BDNF влияют на пролиферацию, дифференцировку, поддержание жизнеспособности и функционирования нейронов (Aloe et al., 2012), а также участвуют в процессах обучения и памяти (Arias et al., 2014; Lynch et al., 2008). Литературные данные указывают на вовлеченность NGF и BDNF в патогенезе БА (Amidfar et al., 2020; Ciafrè et al., 2020; Giuffrida et al., 2018; Iulita et al., 2017; Mufson et al., 2019; Pentz et al., 2021b). Уже на ранней стадии заболевания нарушается функционирование NGF-зависимых холинергических нейронов, локализованных в базальных отделах переднего мозга (Chen et al., 2019). При БА повышается уровень proNGF, что приводит к активации проапоптотического сигнального пути за счет большего сродства к p75-рецепторам. При этом снижается уровень зрелого NGF и его высокоаффинных TrkA-рецепторов в холинергических нейронах базальных отделов переднего мозга (Mitra et al., 2019). Снижение экспрессии BDNF также наблюдается уже на ранней стадии заболевания и коррелирует с аккумуляцией β -амилоида и гиперфосфорилированного тау-белка (Wang et al., 2019). Положительные эффекты экзогенного NGF в условиях экспериментальной БА были известны с 1980-х годов. Исследования показали, что введение в NGF в желудочки мозга предотвращает дегенерацию холинергических нейронов (Hefti, 1986), а также препятствует атрофии нейронов и улучшает пространственную память у старых крыс (Fischer et al., 1987). Экзогенный BDNF защищает нейроны в условиях β -амилоидной токсичности как *in vitro*, так и *in vivo* (Arancibia et al., 2008). На трансгенных мышях линии J20 (мутации в гене белка предшественника амилоида) генная BDNF терапия предотвращала гибель клеток энторинальной коры и улучшала когнитивные функции (Nagahara et al., 2013). На другой генетической модели БА (мыши линии P301L с мутантным геном тау-белка) выявлено нормализующее действие генной BDNF терапии в отношении дегенерации нейронов и синапсов в гиппокампе, а также когнитивных нарушений (Jiao et al., 2016).

Применение нативных нейротрофинов в клинике ограничено слабым проникновением белка через гематоэнцефалический барьер и быстрой биодegradацией (Koroc et al., 2020; Mufson et al., 2019). Недостатком генной терапии является ее инвазивность, высокая стоимость, а также вероятность развития побочных эффектов, обусловленных плейотропностью этих белков. Рядом исследовательских групп разрабатываются низкомолекулярные миметики нейротрофинов с улучшенными фармакокинетическими свойствами (Gudasheva et al., 2021). Частичный агонист TrkA-рецепторов D3 продемонстрировал положительные эффекты на мышинной модели болезни Альцгеймера с гиперэкспрессией β -амилоида (Aboukassim et al., 2011). Активным также оказался низкомолекулярный миметик BDNF, агонист TrkB рецепторов 7,8-дигидроксифлаван (Aytan et al., 2018; Bollen et al., 2013; Zhang et al., 2014). Однако вышеописанные миметики имеют недостатки, так как активируют все основные сигнальные каскады соответствующих рецепторов, что может приводить к таким же побочным эффектам, как и у полноразмерных нейротрофинов. В связи с этим актуальна разработка миметиков, селективно активирующих пострецепторные сигнальные каскады.

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова под руководством академика РАН С.Б. Середенина и член-корр. РАН Т.А. Гудашевой на основе оригинальной гипотезы о том, что фармакофорными являются наиболее экспонированные участки петлеобразных структур нейротрофинов, чаще всего центральные участки их бета-изгибов, и что взаимодействие различных петель с рецептором может приводить к активации разных сигнальных путей (Gudasheva et al., 2012), были сконструированы и синтезированы димерные дипептидные миметики отдельных петель нейротрофинов NGF и BDNF. На основе 1-й и 4-й петель NGF созданы соответственно гексаметилендиамид бис-(N-аминокапроил-глицил-L-лизина) (ГК-6) и гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-L-глутамил-L-лизина) (ГК-2). На основе 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF - соответственно бис-(N-моносукцинил-L-метионил-L-серина) (ГСБ-214), гексаметилендиамид бис-(N-гексаноил-L-серил-L-лизина) (ГТС-201) и гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина) (ГСБ-106) [Патент RU2410392, 2011; Патент CN102365294, 2016; Патент US9683014, 2017; Патент IN296506, 2018; Патент EP2397488, 2019].

Ранее было установлено с использованием Вестерн-блот анализа на гиппокампальных клетках линии HT22, что все полученные соединения активируют соответствующие специфические для полноразмерного нейротрофина высокоафинные Trk рецепторы, но обладают разной картиной активации основных пострецепторных путей трансдукции сигнала PI3K/AKT, MAPK/ERK и PLC- γ 1. Показано, что ГК-2 и ГСБ-214 активируют PI3K/AKT и PLC- γ 1, ГТС-201 – MAPK/ERK и PLC- γ 1. ГК-6 и ГСБ-106 активируют все три сигнальных каскада - PI3K/AKT, MAPK/ERK и PLC- γ 1 (Сазонова и др., 2018; Gudasheva et al., 2015; Gudasheva et al., 2016; Gudasheva et al., 2017b; Gudasheva et al., 2020). Все дипептиды в микро-наномолярных концентрациях обладали нейропротекторной активностью в условиях окислительного стресса на гиппокампальных клетках линии HT22 (Гудашева и др., 2010; Гудашева и др., 2017; Сазонова и др., 2018; Gudasheva et al., 2012).

Димерные дипептидные миметики – системно-активные соединения. Ранее у димерного дипептидного миметика NGF ГК-2 была выявлена активность на модели БА, вызванной септо-гиппокампальной перерезкой (Поварнина и др., 2013), при ишемическом инсульте, индуцированном окклюзией средне-мозговой артерии (Gudasheva et al., 2019), а также на

стрептозотоциновой модели сахарного диабета 2 типа (Ягубова и др., 2022; Ostrovskaya et al., 2017). Миметик BDNF ГСБ-106 проявлял когнитотропную активность при 5-дневном введении в тесте условного рефлекса пассивного избегания на модели амнезии у крыс, вызванной максимальным электрошоком, а также при хроническом введении в тесте распознавания нового объекта в физиологических условиях (Povarnina et al., 2020), а также нейропротекторную активность на модели транзиторной окклюзии средней мозговой артерии (Gudasheva et al., 2016) и антидиабетическую активность на модели стрептозотоцинового диабета у мышей (Ягубова и др., 2020). Миметик BDNF ГСБ-214 показал нейропротекторную активность *in vivo* на модели ишемического инсульта, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии у крыс (Gudasheva et al., 2016), а также оказался наиболее активным на модели стрептозотоцинового диабета (Yagubova et al., 2020).

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение мнемотропной активности низкомолекулярных миметиков нейротрофинов NGF и BDNF в норме и в моделях болезни Альцгеймера. В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучение влияния низкомолекулярных миметиков нейротрофинов на кратковременную и долговременную память в тесте распознавания нового объекта.
2. Исследование зависимости мнемотропного эффекта наиболее активных соединений от дозы.
3. Подтверждение реализации мнемотропного эффекта наиболее активного соединения через Trk рецепторы с использованием блокатора K252A.
4. Исследование наиболее активных соединений в модели холинергического дефицита, вызванного длительным введением скополамина.
5. Изучение мнемотропной активности наиболее активного соединения на стрептозотоциновой модели БА.
6. Оценка влияния прямой аппликации миметиков на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля CA1 гиппокампа.

Научная новизна работы

Впервые установлено, что при остром внутрибрюшинном введении в тесте распознавания нового объекта мнемотропной активностью обладают миметик NGF ГК-2 и миметик BDNF ГСБ-214, активирующие *in vitro* PI3K/АКТ и PLC γ сигнальные пути.

Впервые установлено, что мнемотропная активность ГК-2 и ГСБ-214 в физиологических условиях зависит от дозы, причем кривая доза-эффект имеет колоколообразную форму, характерную для пептидных препаратов.

Впервые показано, что мнемотропные эффекты ГСБ-214 зависят от активации TrkB-рецепторов.

Впервые когнитотропные свойства ГК-2 и ГСБ-214 были подтверждены на модели болезни Альцгеймера, вызванной хроническим введением антагониста мускариновых холинорецепторов – скополамина. Также эффекты ГСБ-214 подтверждены на модели болезни Альцгеймера, вызванной внутрижелудочковым введением стрептозотоцина.

Впервые изучено влияние прямой аппликации миметиков нейротрофинов на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля СА1 гиппокампа.

Научно-практическая значимость работы

Теоретическое и практическое значение имеют установленные мнемотропные свойства дипептидных миметиков отдельных петель нейротрофинов и их связь с активацией пострецепторных сигнальных путей. Полученные в результате работы данные о положительных эффектах миметиков в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера позволяют разработать принципиально новую стратегию фармакологической коррекции нарушений памяти. Активные дипептидные миметики нейротрофинов могут послужить основой для разработки нового класса препаратов для терапии болезни Альцгеймера с нейротрофинергическим механизмом действия.

Методология исследования

Методологический подход включал изучение дипептидных миметиков в тесте распознавания нового объекта на крысах линии Wistar с отбором наиболее активных соединений для последующего изучения в экспериментальных моделях болезни Альцгеймера. Изучение механизма мнемотропного действия соединения-лидера проводилось с применением фармакологического ингибиторного анализа. В работе также использовался метод внеклеточной регистрации вызванных потенциалов пирамид поля СА1 гиппокампа при стимуляции коллатерали Шаффера на переживающих срезах гиппокампа крысы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Синтетические низкомолекулярные миметики фактора роста нервов (NGF) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF) способны улучшать долговременную память у крыс.
2. Миметик 4-й петли NGF ГК-2 и миметик 1-й петли BDNF ГСБ-214, которые *in vitro* активируют PI3K- и PLC-γ пострецепторные сигнальные пути без влияния на MAPK, улучшают долговременную память без влияния на возбудимость нейронов в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля СА1 гиппокампа.
3. Миметики ГК-2 и ГСБ-214 корректируют нарушения долговременной памяти, индуцированные антагонистом м-холинорецепторов скополамином.
4. Внутривентрикулярное введение нейротоксина стрептозотоцина приводит к нарушениям кратковременной памяти, сопровождающимся снижением уровня белка-предшественника амилоида в префронтальной коре, но не в гиппокампе.
5. Миметик ГСБ-214 корректирует нарушения кратковременной памяти, индуцированные стрептозотоцином.
6. Миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106, активирующий в отличие от ГСБ-214 *in vitro* MAP-киназный каскад, увеличивает амплитуду фокальных потенциалов действия, но не улучшает долговременную память.

Апробация работы

Данные, полученные в работе, представлены в виде докладов или стендовых сообщений на XXVIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов 2021" (Москва, 2021), 34th ECNP Congress (Лиссабон, 2021), Объединенном научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Сочи, 2022), XXX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов 2023" (Москва, 2023), XXIV съезде физиологического общества им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023).

Публикации

По результатам работы опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, индексируемых аналитическими базами Scopus, Web of Science, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных и 1 патент.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из 8 разделов, включая введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов, заключение, выводы и список литературы, включающий 29 отечественных и 504 зарубежных источника. Общий объем работы 177 страниц, содержит 28 рисунков и 13 таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вещества

Димерные дипептидные миметики нейротрофинов были получены в Отделе химии лекарственных средств НИИ фармакологии им. В.В. Закусова методами классического пептидного синтеза в растворе. Стерильные вещества в твердой форме хранили при +4 °C, все растворы готовили непосредственно перед экспериментами. При проведении фармакологического ингибиторного анализа использовали специфический блокатор Trk-рецепторов – соединение K252A, полученное в компании Sigma Aldrich Co. (St Louis, MO, USA). Для моделирования болезни Альцгеймера были использованы неселективный антагонист мускариновых ацетилхолиновых рецепторов скополамин и токсичный алкилирующий агент стрептозотоцин. Скополамин (SC) был получен в компании Acros Organics (New Jersey, USA). Стрептозотоцин (STZ) был получен в компании Sigma Aldrich Co. (St Louis, MO, USA).

Вестерн-блот

Крыс декапитировали и выделяли префронтальную кору и гиппокамп. Влияние вещества на иммунореактивность к белку-предшественнику амилоида (APP) в коре и гиппокампе оценивали с помощью Вестерн-блот анализа (Towbin et al., 1979). В качестве референсного белка использовали β -актин. Были использованы первичные моноклональные антитела против APP (Thermo Fisher Scientific, США) и вторичные козы антитела против IgG кролика ("Santa Cruz Biotechnology", США, 1:2000), конъюгированными с пероксидазой хрена. Детектирование белков осуществляли с использованием гель-документирующей системы Alliance Q9 ("UVITEC", Великобритания).

Животные

Эксперименты проводили на крысах самцах Wistar, полученных из Филиала «Андреевка» Федерального Государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр

биомедицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства. Общее количество животных $n=427$. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде и при естественной смене светового режима.

Поведенческие тесты

Тест распознавания нового объекта. Для оценки памяти животных использовали тест распознавания нового объекта (Novel object recognition test, NOR). Тест состоял из следующих сессий: сессия адаптации, сессия ознакомления и две тестовые сессии (через 1 и 24 ч после ознакомления). Тест основан на врожденном предпочтении новизны у крыс (Ennaceur, 2010). Так как префронтальная кора играет существенную роль в процессе запоминания объектов, тест позволяет выявить нарушения в этой области мозга (Akirav et al., 2005). В качестве критерия памяти использовали коэффициент дискриминации (Beldjoud et al., 2015), который рассчитывали по формуле: $KД = (T_{нов} - T_{зн}) / (T_{нов} + T_{зн})$, где $T_{нов}$ – время исследования нового объекта, $T_{зн}$ – время исследования знакомого объекта. Значения $KД > 0$ означают, что животное помнит объект, предъявлявшийся в фазу ознакомления.

Открытое поле. Тест «открытое поле» был использован для оценки двигательной активности животных. Открытое поле позволяет выявить нарушения в базальных ганглиях, а также лимбической системе (Ковалёв et al., 2019).

Приподнятый крестообразный лабиринт. Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) проводили для оценки уровня тревожности животных. Он основан на естественном предпочтении крысами темных мест, а также на страхе нахождения на открытых площадках (основная структура мозга, ответственная за страх – лимбическая система) (Srasov et al., 2018).

Т-лабиринт. Тест предназначен для исследования рабочей пространственной памяти грызунов. В основе теста лежит врожденная тенденция к поведению чередования при исследовании незнакомой среды и направлен на выявление нарушений в гиппокампе (Deacon et al., 2002).

У-лабиринт. Тест также предназначен для исследования рабочей пространственной памяти грызунов на основе тенденции к спонтанному чередованию (Deacon et al., 2002). Тест позволяет выявить нарушения в гиппокампе и префронтальной коре (Kraeuter et al., 2019).

Исследование мнемотропной активности миметиков NGF и BDNF при однократном введении в тесте распознавания нового объекта. Были проведены отдельные эксперименты с каждым из дипептидных миметиков NGF и BDNF. В каждом эксперименте крысы были разделены случайным образом на контрольную группу, получавшую однократно внутрибрюшинно (в/б) дистиллированную воду, и группы, получавшие однократно в/б исследуемый дипептид в разных дозах. Миметики нейротрофинов исследовались в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг для ГСБ-214; 0,1; 1,0 и 5,0 мг/кг для ГТС-201; 0,1; 0,5 и 1,0 мг/кг для ГСБ-106; 0,5 и 1,0 мг/кг для ГК-2; 2,0 и 5,0 мг/кг для ГК-6. Дозы миметиков NGF и BDNF выбраны на основе проведенных ранее исследований фармакологической активности. Все миметики растворяли в дистиллированной воде и вводили внутрибрюшинно (в/б). Через 24 ч после инъекции начинали тест распознавания нового объекта.

Для определения кривой доза-эффект были проведены дополнительные отдельные эксперименты с различными дозами активных миметиков ГК-2 (0,1; 0,5 и 5,0 мг/кг) и ГСБ-214 (0,01; 0,1 и 5,0 мг/кг). Тест распознавания нового объекта также проводили через 24 ч после инъекции.

Исследование мнемотропного эффекта ГСБ-214 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта с использованием блокатора K252A. Крысы были разделены на четыре группы: Контроль, ГСБ-214 0,1 мг/кг, ГСБ-214 0,1 мг/кг + K252A 100 мкг/кг, K252A 100 мкг/кг. ГСБ-214 в дозе 0,1 мг/кг или эквивалентное количество дистиллированной воды вводили в/б через 20 мин после в/б инъекции K252A в дозе 100 мкг/кг в 1% DMSO или 1% DMSO. Через 24 ч начинали тест распознавания нового объекта.

Исследования эффектов миметика ГК-2 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера. Скополамин в физ. растворе вводили крысам в дозе 2 мг/кг в/б в течение 35 дней. Параллельно со скополамином, через два часа после инъекции SC, животным в/б вводили, растворенный в дистиллированной воде ГК-2 в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг. Группе «контроль» вводили вместо скополамина физ. раствор, а вместо ГК-2 – дистиллированную воду по той же схеме в эквивалентных объемах. Группе «SC» вводили скополамин и дистиллированную воду. На 25-й день проводили тест Открытое поле, на 26-й – ПКЛ, на 32-й – 33-й дни проводили тест распознавания нового объекта, на 36-й день проводили тест Т-лабиринт.

Исследование эффектов миметика ГСБ-214 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера. Скополамин в физ. растворе вводили крысам в дозе 2,0 мг/кг в/б в течение 20 дней. ГСБ-214 в дистиллированной воде вводили в дозах 0,05; 0,1 и 1,0 мг/кг, в/б в течение 10 дней после скополамина. Группе «контроль» вводили вместо скополамина физ. раствор, а вместо ГСБ-214 – дистиллированную воду по той же схеме в эквивалентных объемах. Группе «SC» вводили скополамин и дистиллированную воду. На 31-й день проводили тест Y-лабиринт, на 32-й – 33-й дни проводили тест распознавания нового объекта.

Исследование эффектов миметика ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели болезни Альцгеймера. STZ в цитратном буфере вводили с помощью стереотаксиса в желудочки мозга AP = -1.0; L = 1.5; глубина 3.5 в дозе 3,0 мг/кг. Объем инъекции составлял 3 мкл в каждый желудочек, скорость введения 1 мкл/мин. Через час после операции в/б вводили ГСБ-214 в дозе 0,1 мг/кг и далее однократно каждый день в течение 13 дней. Группе «контроль» вводили вместо STZ цитратный буфер, а вместо ГСБ-214 – дистиллированную воду по той же схеме в эквивалентных объемах. Группе «STZ» вводили STZ и дистиллированную воду. На 19-й – 20-й дни проводили тест распознавания нового объекта, на 21-й день проводили тест Y-лабиринт. На 31-день также проводили сбор биообразцов для Вестерн-блот анализа.

Электрофизиологические исследования

Влияние миметиков на вызванную синаптическую активность изучали на переживающих поперечных срезах гиппокампа 5-8 недельных крыс. Срезы гиппокампа 300-500 мкм получали с

помощью виброножа оригинальной конструкции [Патент RU214839, 2022]. Фокальные возбуждающие постсинаптические потенциалы (фВПСП) регистрировали в *str. radiatum* поля CA1 *str. pyramidale* с помощью стеклянных микрокапилляров. Стимуляцию проводили биполярным вольфрамовым электродом в области коллатерали Шаффера на границе полей CA2 и CA1 парными импульсами (0,1 мс длительность, межстимульный интервал 50 мс) с частотой 0,03 Гц.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение мнемотропной активности миметиков NGF и BDNF при однократном введении в тесте распознавания нового объекта

Установлено, что однократное внутрибрюшинное введение миметиков NGF ГК-6 и ГК-2 за 24 ч до начала теста распознавания нового объекта не оказало статистически значимого влияния на кратковременную память ни в одной из исследованных доз – не было выявлено межгрупповых различий по коэффициенту дискриминации в тесте 1 (через 1 ч после ознакомления с объектами).

В то же время ГК-2 статистически значимо улучшал долговременную память в тесте 2 (через 24 ч после ознакомления с объектами): коэффициент дискриминации в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг был в 2,3 раза выше по сравнению с контрольной группой ($p=0,0408$ и $p=0,0382$, соответственно) (рис. 1). ГК-6 не вызывал изменения коэффициента дискриминации. При этом ни в одной из групп не наблюдалось отличий в количестве подходов к исследуемым объектам и времени исследования.

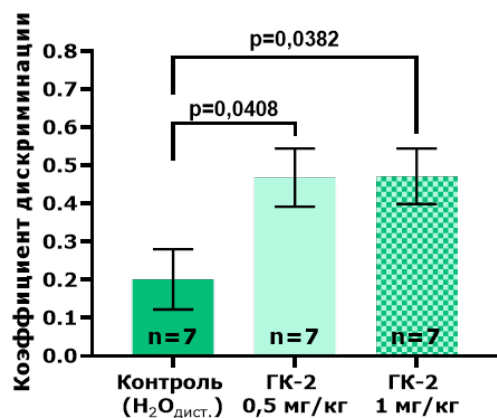


Рис. 1. Эффекты дипептидного миметика NGF ГК-2 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Миметики BDNF, дипептиды ГСБ-214, ГТС-201 и ГСБ-106, также не влияли на кратковременную память после однократного внутрибрюшинного введения: в тесте распознавания нового объекта ни в одной из исследованных доз. При этом только ГСБ-214 в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг улучшал долговременную память, увеличивая коэффициент дискриминации по сравнению с контрольной группой в тесте 2 (через 24 ч после ознакомления) в 1,8 ($p=0,0047$) и 1,7 раз ($p=0,0206$) (рис. 2). Ни в одной из групп, так же, как и в случае с миметиками NGF, не наблюдалось отличий в количестве подходов к исследуемым объектам и времени исследования.

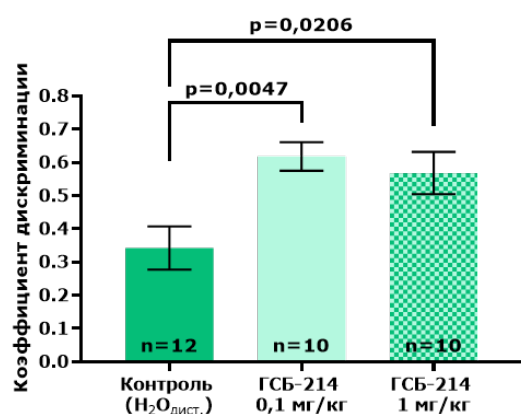


Рис. 2. Эффекты дипептидного миметика BDNF ГСБ-214 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Изучение зависимости мнемотропного эффекта ГК-2 и ГСБ-214 от дозы в тесте распознавания нового объекта

Были проведены дополнительные исследования зависимости мнемотропного эффекта активных миметиков ГК-2 и ГСБ-214 от дозы.

В соответствии с ранее полученными данными внутрибрюшинное введение ГК-2 не оказало статистически значимого влияния на кратковременную память животных, не было выявлено межгрупповых различий по коэффициенту дискриминации ни в одной из исследованных доз в тесте 1 (через 1 ч после ознакомления с объектами).

В тесте 2 (через 24 ч после ознакомления с объектами) ГК-2 в дозе 0,5 мг/кг статистически значимо увеличивал коэффициент дискриминации по сравнению с контрольной группой, проявляя мнемотропный эффект (рис. 3). КД был увеличен в 2,7 раз ($p < 0,0001$). В дозах 0,1 и 5,0 мг/кг дипептид был неактивен.

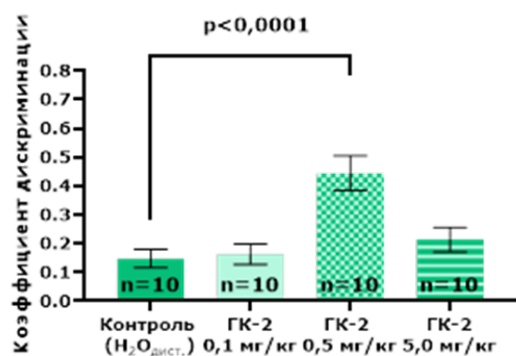


Рис. 3. Эффекты различных доз ГК-2 в тесте распознавания нового объекта через 24 часа после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таким образом кривая «доза-эффект» для миметика 4-й петли NGF ГК-2 имеет характерный для регуляторных пептидов вид колокола (рис. 4).

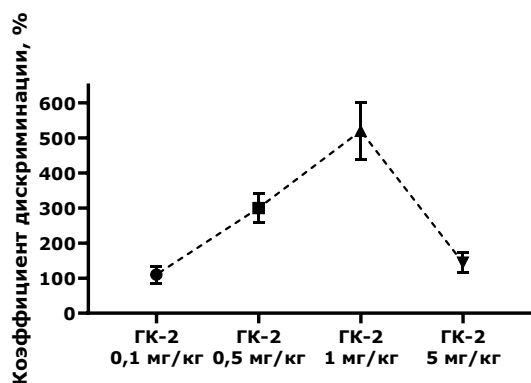


Рис. 4. Кривая «доза-эффект» миметика 4-й петли NGF ГК-2. Данные представлены в виде процентных значений от контроля. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

Однократное внутрибрюшинное введение ГСБ-214 также не оказало статистически значимого влияния на коэффициент дискриминации в тесте 1 (через 1 ч после ознакомления с объектами), не было выявлено межгрупповых различий по коэффициенту дискриминации ни в одной из исследованных доз, что согласуется с ранее полученными данными об отсутствии влияния дипептидов на кратковременную память крыс.

В тесте 2 (через 24 ч после ознакомления) только ГСБ-214 в дозе 0,1 мг/ кг, статистически значимо увеличивал коэффициент дискриминации по сравнению с контролем ($p < 0,0001$ по сравнению с группой «Контроль») увеличивая его значение в 2 раза, в тесте 1 не было выявлено статистически значимых межгрупповых различий в коэффициенте дискриминации (рис. 5).

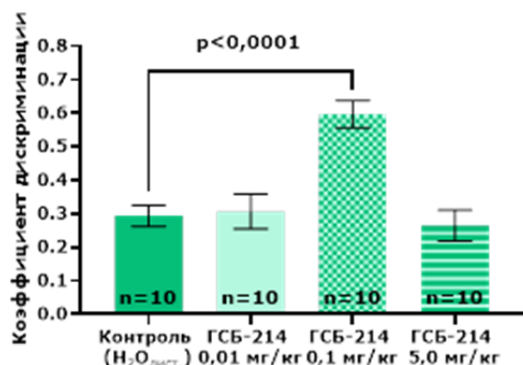


Рис. 5. Эффекты различных доз ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таким образом кривая «доза-эффект» для миметика 1-й петли BDNF ГСБ-214 также имеет характерный для регуляторных пептидов вид колокола (рис. 6).

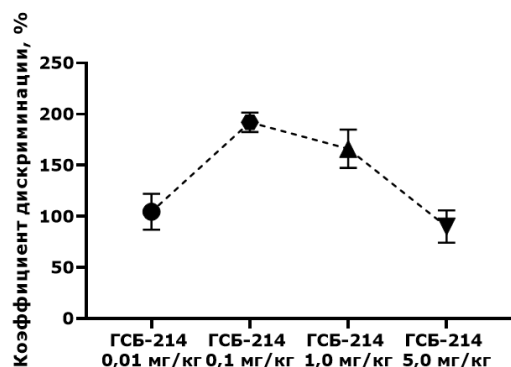


Рис. 6. Кривая «доза-эффект» миметика 1-й петли BDNF ГСБ-214. Данные представлены в виде процентных значений от контроля. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

Изучение мнемотропного эффекта ГСБ-214 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта с использованием блокатора Trk-рецепторов K252A

Для подтверждения реализации мнемотропного эффекта ГСБ-214 за счет взаимодействия с TrkB-рецепторами был проведен фармакологический ингибиторный анализ с использованием блокатора Trk-рецепторов K252A. Было выявлено, что в тесте 2 (через 24 ч после ознакомления) ГСБ-214 в дозе 0,1 мг/ кг, статистически значимо увеличивал коэффициент дискриминации по сравнению с контролем ($p = 0,0008$). При этом введение ингибитора Trk-рецепторов K252A 100 мкг/кг нивелировало этот эффект. У группы, получивший ингибитор перед введением дипептида, коэффициент дискриминации статистически не отличался от контрольной группы и был значимо ниже, чем у группы ГСБ-214 0,1 мг/кг ($p < 0,0001$). Введение K252A без миметика также не оказало значимого эффекта на память крыс по сравнению с контролем (рис. 7). Не было выявлено статистически значимых межгрупповых различий в коэффициенте дискриминации в тесте 1.

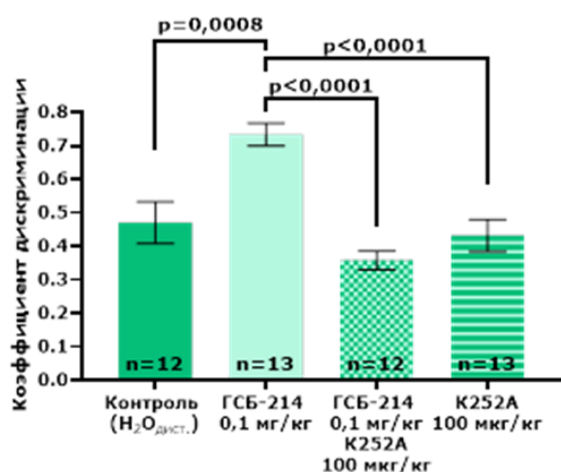


Рис. 7. Фармакологический ингибиторный анализ влияния ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (two-way ANOVA, Tukey test).

Изучение эффектов миметика ГК-2 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера

По сравнению с контрольной группой хроническое введение блокатора мускариновых холинорецепторов скополамина вызывало статистически значимое снижение коэффициента дискриминации в тесте 2 (через 24 ч после ознакомления) ($p=0,0038$), что свидетельствует об ухудшении долговременной памяти. Хроническое введение ГК-2 на фоне введения скополамина в дозе 1,0 мг/кг противодействовало ухудшению долговременной памяти ($p=0,0113$ по сравнению с группой «SC») (рис. 8). Дипептид ГК-2 в дозе 0,5 мг/кг был не активен.

Межгрупповых различий в тестах «Открытое поле», «ПКЛ» при естественном и ярком освещении не наблюдалось. При проведении теста в условиях яркого освещения животные проводили меньше времени в открытых рукавах, что объясняется стрессогенностью яркого света. В «Т-лабиринте» также не было различий – во всех группах крысы спонтанно чередовали рукава. Ошиблась только 1 крыса из контрольной группы и 1 крыса из группы «скополамин».

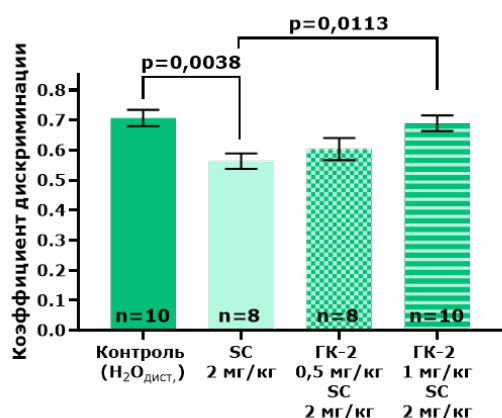


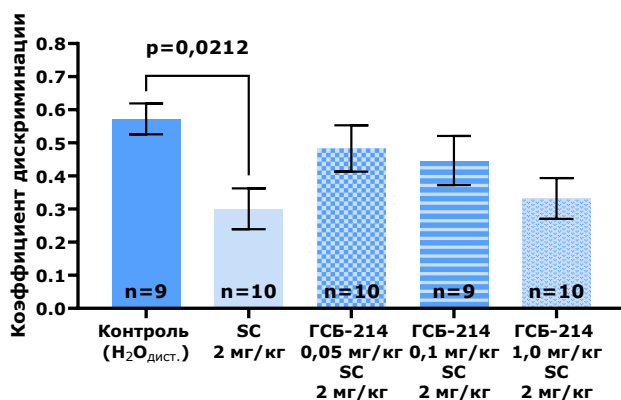
Рис. 8. Эффекты ГК-2 на модели скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Изучение эффектов миметика ГСБ-214 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера

По сравнению с контрольной группой хроническое введение скополамина вызывало статистически значимое снижение коэффициента дискриминации как в тесте 1 (через 1 ч после ознакомления с объектами) ($p=0,0212$ по сравнению с контрольной группой), так и в тесте 2 (через 24 ч после ознакомления) ($p=0,0077$ по сравнению с контрольной группой), что свидетельствует об ухудшении соответственно кратковременной и долговременной памяти (рис.

8А). Хроническое введение ГСБ-214 в дозах 0,01 и противодействовало ухудшению долговременной памяти ($p=0,0177$ и $0,0304$ соответственно по сравнению с группой «SC») и не влияло на кратковременную (рис. 8Б).

А



Б

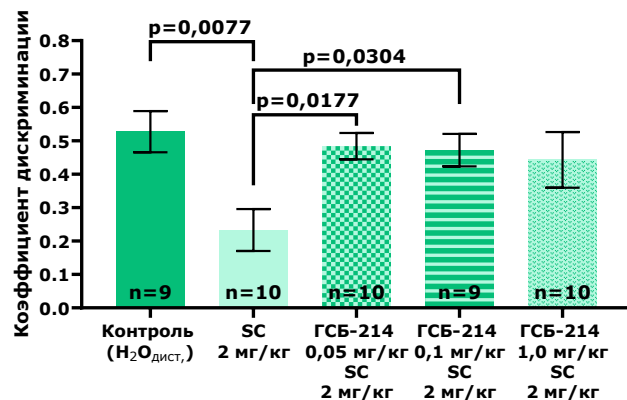


Рис. 8. Эффекты ГСБ-214 на модели скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 ч после фазы ознакомления. Б – через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Межгрупповых различий в тесте «У-лабиринт» не наблюдалось.

Таким образом, ГСБ-214 на скополаминовой модели БА в дозах 0,05 и 0,1 мг/кг (в/б, 10 дней) препятствовал ухудшению долговременной памяти крыс.

Изучение эффектов миметика ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели болезни Альцгеймера

На стрептозотоциновой модели БА, статистически значимые нарушения памяти в группе STZ были выявлены в тесте распознавания нового объекта через 1 ч после ознакомления животных с объектами ($p=0,0045$), но не через 24 ч. Таким образом, у крыс при моделировании болезни Альцгеймера наблюдались нарушения кратковременной, но не долговременной памяти, что характерно для ранней стадии развития заболевания (Richter et al., 2018). ГСБ-214 в дозе 0,1 мг/кг статистически значимо корректировал эти нарушения ($p=0,0032$), коэффициент дискриминации в группе, получавших лечение животных, был выше в 4,8 раза по сравнению с группой «STZ» (рис. 9). Ни в одной из исследованных групп не наблюдалось отличий в количестве подходов к исследуемым объектам и времени исследования.

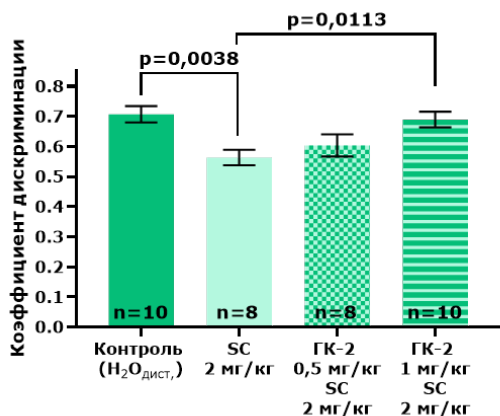


Рис. 9. Эффекты ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели БА в тесте распознавания нового объекта через 1 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (one-way ANOVA, Dunnett test).

Межгрупповых различий в тесте «У-лабиринт» не наблюдалось.

Через 21 день после операции не было выявлено межгрупповых различий по иммунореактивности к предшественнику β -амилоида APP в гиппокампе. Иммунореактивность в коре головного мозга у контрольной группы была значимо выше, чем у группы «STZ». Животные, получавшие ГСБ-214, не отличались ни от одной из групп (рис. 10).

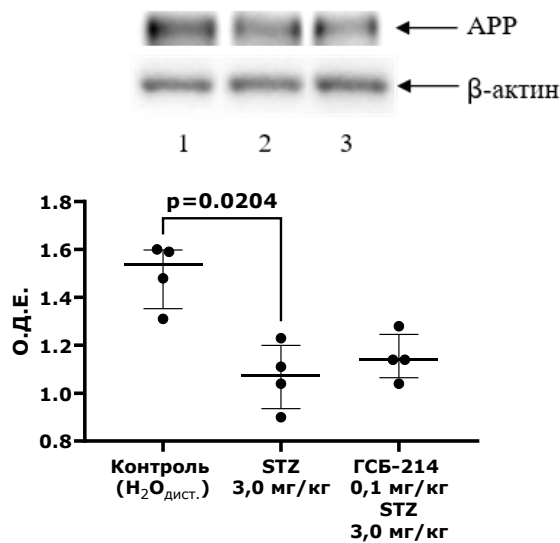


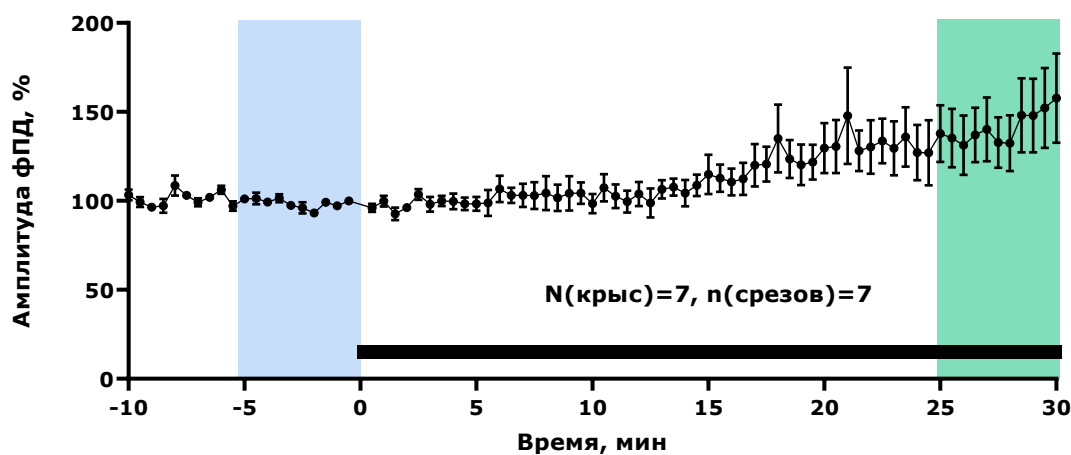
Рис. 10. Влияние ГСБ-214 на содержание APP в префронтальной коре крыс на 21 день после введения STZ. Дорожки: 1 – Контроль, 2 – STZ, 3 – STZ + ГСБ-214. О.Д.Е. – относительные денситометрические единицы. Данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов (Kruskal-Wallis test, Dunn test).

Острые эффекты миметиков NGF и BDNF на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды CA1

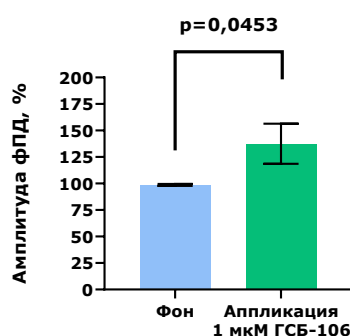
Аппликация ГК-2 в наиболее эффективной *in vitro* концентрации 1 мкМ в течение 15 мин в перфузирующий раствор с последующим отмыванием стандартным перфузатом в течение 30 мин не оказала значимого влияния на скорость нарастания фВПСП и амплитуду фПД. Величина наклона фВПСП за 10-15 мин аппликации составила $99,12 \pm 2,04\%$ от фонового уровня, а в 25-30 мин отмыва $93,08 \pm 4,56\%$ (рис. 23). Снижение ответа оказалось статистически незначимо ($p=0,19$, repeated measures ANOVA). На отношение угла наклона второго вызванного ответа к углу наклона первого (paired-pulse ratio, PPR) при парной стимуляции ГК-2 не оказал статистически значимого влияния. Аппликация миметика 1-й петли BDNF ГСБ-214 в концентрации 1 мкМ в течение 40 мин в перфузирующий раствор также не оказала значимого влияния на скорость нарастания фВПСП и амплитуду фПД. Величина наклона фВПСП за 35-40 мин аппликации составила $92 \pm 4,4\%$ от фонового уровня. Небольшое уменьшение ответа оказалось статистически незначимо ($p=0,39$, paired t test). Величина амплитуды фПД также не изменилась при воздействии ГСБ-214 ($p=0,18$, paired t test) и составила $106,6 \pm 6,3\%$ от фонового уровня.

Аппликация миметика 4-й петли BDNF ГСБ-106 1 мкМ, активирующего все основные пострецепторные сигнальные каскады, также не оказала влияния на фВПСП и параметр PPR. Однако наблюдался значительный рост амплитуды фПД. Ее величина за 25-30 мин аппликации составила $165,7 \pm 18,2\%$ от фонового уровня, такое повышение оказалось статистически значимым ($p=0,0453$, paired t test) (рис. 11).

А



Б



В

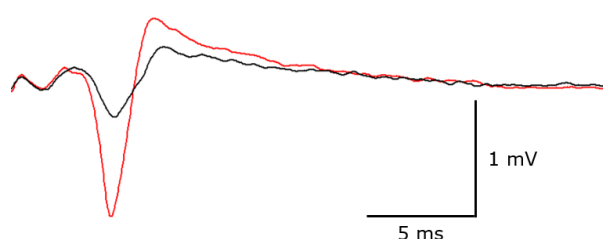


Рис. 11. Влияние аппликации 1 мкМ ГСБ-106 на фПД. А – Динамика изменения амплитуды фПД в поле СА1 гиппокампа, аппликация показана черным прямоугольником. Б – Усредненные значения за 5 последних минут. В – Пример фВПС до (чёрная линия) и после (красная линия) аппликации. Данные представлены в виде % от фона. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (paired t test).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мнемотропная активность миметиков NGF и BDNF в физиологических условиях при однократном введении в тесте распознавания нового объекта

Ни один из исследуемых миметиков NGF и BDNF при остром введении не оказывал влияния на двигательную активность, тревожность, а также кратковременную память крыс в тесте распознавания нового объекта. Однако миметики ГК-2 и ГСБ-214, которые *in vitro* активировали PI3K/AKT и PLC- γ 1 сигнальные пути без влияния на MAPK/ERK, статистически значимо улучшали долговременную память, через 48 ч после введения. Как ГК-2, так и ГСБ-214 обладали мнемотропным эффектом в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг и 0,1 и 1,0 мг/кг, соответственно. В этих же дозах ГК-2 и ГСБ-106 проявляли активность в ранее проведенных экспериментах на моделях ишемического инсульта, депрессии и сахарного диабета (Gudasheva et al., 2021).

Полученные результаты о влиянии ГК-2 и ГСБ-214 на долговременную память согласуются с литературными данными о необходимости фосфорилирования PI3-киназы для индукции долговременной потенциации (LTP) в гиппокампе (Man et al., 2003; Raymond et al., 2002), которая предполагается электрофизиологическим эквивалентом памяти.

Имеются данные, указывающие на вовлеченность PI3K/AKT каскада в формирование именно долговременной памяти. Так, ингибирование PI3K с помощью LY294002 приводит к

нарушению долговременной памяти, но не влияет на кратковременную память в тесте восьмирукавный лабиринт (Norwood et al., 2006). Подобные результаты были получены и для памяти связанной со страхом в тесте условной реакции активного избегания (Lin et al., 2001). Одним из посредников PI3K/АКТ каскада является серин/треониновая протеинкиназа mTOR, играющая важную роль в синаптогенезе и синаптической пластичности (Hoeffler et al., 2010). Ингибирование mTOR помощью рапамицина приводило к нарушению долговременной памяти, но не влияло на кратковременную память у крыс в тесте распознавания нового объекта (Jobim et al., 2012). Результаты настоящего исследования свидетельствуют в пользу того, что активация PI3K/АКТ и PLC- γ 1 при отсутствии активации MAPK/ERK является существенным условием для проявления мнемотропной активности миметиками NGF и BDNF, а именно улучшения долговременной памяти.

Проявившие активность по результатам скрининга в тесте распознавания нового объекта соединения миметик NGF ГК-2 и миметик BDNF ГСБ-214 были отобраны для дальнейших исследований. Была изучена зависимость их мнемотропных эффектов от дозы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что эта зависимость имеет колоколообразный характер. Для ГК-2 оптимальной для развития мнемотропного эффекта оказалась доза 0,5 мг/кг, повышение дозы до 5,0 мг/кг и снижение до 0,1 мг/кг приводило к потере эффекта. Для ГСБ-214 оптимальная доза 0,1 мг/кг, повышение дозы до 5,0 мг/кг и снижение до 0,01 мг/кг приводило к потере эффекта.

Колоколообразная зависимость «доза-эффект» характерна для многих биологических молекул, включая регуляторные пептиды (Puzzo et al., 2012). Двухфазная или трехфазная реакция на увеличивающееся воздействие получила название гормезиса (hormesis) и является характеристикой многих биологических систем (Calabrese, 2018). Концепция гормезиса получила широкое распространение в фундаментальных биологических и биомедицинских науках (Calabrese, 2008). Колоколообразная зависимость эффектов от дозы ранее была показана для ГК-2 на моделях болезни Паркинсона (Поварнина и др., 2011) и диабета (Иванов и др., 2021). Интересно отметить, что подобная зависимость отмечается и для полноразмерных NGF и BDNF, что в случае с полноразмерными белками связывают с активацией стимулирующих апоптоз низкоаффинных рецепторов p75NTR, сопряженных с доменом смерти (Kemp et al., 2011; Klöcker et al., 1998; Wang et al., 2001).

Для подтверждения реализации мнемотропных эффектов ГСБ-214 через взаимодействие с TrkB-рецепторами был использован неселективный ингибитор Trk-рецепторов K252A (Tapley et al., 1992). Исчезновение мнемотропного эффекта ГСБ-214 в условиях предварительного введения блокатора подтверждает лигандные свойства дипептида.

Можно отметить отличия в значениях КД у контрольных групп в разных экспериментах, что предположительно может быть связано с индивидуальными особенностями различных партий животных, поступивших из одного питомника в разные периоды. Контрольные животные, показавшие меньший КД, были старше. Известно, что с возрастом способность крыс к распознаванию нового объекта ухудшается (Burke et al., 2011). При этом, мнемотропные эффекты препаратов воспроизводились.

Далее активные соединения были изучены на фармакологических моделях болезни Альцгеймера.

Эффекты ГК-2 на скополаминовой модели БА

Так как нами было обнаружено положительное влияние дипептидного миметика NGF ГК-2 в физиологических условиях на долговременную память крыс в тесте распознавания нового объекта, была изучена мнотропная активность ГК-2 в нескольких поведенческих тестах в наиболее активных дозах в условиях скополаминовой модели БА.

Скополаминовая амнезия широко используется для оценки потенциальных терапевтических средств для лечения БА, так как вызывает когнитивные нарушения (Bhuvanendran et al., 2018; Neo et al., 2014). Скополамин – антагонист мускариновых ацетилхолиновых рецепторов, его негативные эффекты связаны с истощением и гибелью холинергических нейронов в коре и гиппокампе (Jahanshahi et al., 2013; Zhang et al., 2017), снижением АЦХ и повышением ацетилхолинэстеразы (Giridharan et al., 2011); скополамин вызывает окислительный стресс и нейровоспаление (Mostafa et al., 2016a).

В условиях скополаминовой модели мы не выявили нарушений в тестах «Открытое поле», «ПКЛ» и «Т-лабиринт». В нашем эксперименте, предположительно, не была достигнута тяжелая степень когнитивных нарушений у животных, и наблюдался лишь дефицит долговременной памяти. В связи с чем тест спонтанного чередования в Т-лабиринте оказался недостаточно чувствительным.

Дипептид ГК-2 корректировал нарушения долговременной памяти в тесте распознавания нового объекта в дозе 1 мг/кг, что согласуется с ранее полученными результатами для ГК-2 в физиологических условиях. Данный тест особенно актуален при моделировании БА, поскольку позволяет оценить зрительную память, которая поражается уже на ранних стадиях прогрессирования БА (Grayson et al., 2015). Выявленный эффект предположительно связан с активацией ГК-2 PI3K/AKT каскада, выявленной *in vitro*. Полученные результаты согласуются с литературными данными о роли PI3K/AKT пути в процессах памяти (Azarafrouz et al., 2022). Компонентом PI3K/AKT каскада является серин/треониновая протеинкиназа mTOR, играющая важную роль в синаптической пластичности и синаптогенезе (Switon et al., 2017). Опосредуемые mTOR долгосрочные электрофизиологические и структурные изменения в синапсах, лежат в основе высших функций мозга, включая долговременную память (Hoeffler et al., 2010). Показано, что ингибирование mTOR приводит к нарушениям долговременной, но не кратковременной памяти у крыс в тесте распознавания нового объекта (Jobim et al., 2012). PI3K снижает активность киназы гликогенсинтазы 3β (GSK- 3β), вовлеченной в увеличение продукции β -амилоида и гиперфосфорилирование тау-белка (Long et al., 2021). При БА олигомеры A β ингибируют PI3K/Akt каскад, при этом среди мишеней Akt основную роль в нейропротекции играют GSK- 3β и mTOR (Yu et al., 2017). Также следует отметить, что нейропротекторные свойства используемых для лечения БА ингибиторов ацетилхолинэстеразы связывают с активацией PI3K совместно с Fyn и JAK2, PI3K активирует Akt, что повышает экспрессию противоапоптотического белка Bcl-2 (Takada-Takatori et al., 2006). PI3K/AKT каскад ингибирует про-апоптотический белок Bax (Reichardt, 2006a; Tsuruta et al., 2002).

Мы предполагаем, что отсутствие активации дипептидом ГК-2 MAPK/ERK является желательным свойством для потенциального препарата для лечения БА, поскольку имеются литературные данные, свидетельствующие о вкладе MAPK/ERK в нейродегенерацию при данном заболевании (Kirouac et al., 2017).

Эффекты ГСБ-214 на скополаминовой модели БА

Активный миметик BDNF ГСБ-214 также был исследован на скополаминовой модели БА. Однако, в эксперименте был использован измененный протокол хронического введения скополамина. Скополамин в физ. растворе вводили крысам в дозе 2 мг/кг, внутривентрикулярно (в/в) в течение 20 дней. ГСБ-214 вводили в/в в течение 10 дней после скополамина. Мы выявили нарушения кратковременной и долговременной памяти, что соответствует литературным данным (Bhuvanendran et al., 2018; Mugwagwa et al., 2015). Предположительно, в таких условиях было сформировано более выраженное повреждение мозга животных. В использованной нами модификации модели нарушения, индуцированные хроническим введением скополамина с его последующей отменой, объясняются включением механизмов обратной связи, которые сначала ведут к повышению плотности и аффинности холинорецепторов, а затем к холинергическому дефициту, обусловленному ускоренным связыванием «наличного» ацетилхолина. По литературным данным – это приводит к более выраженным нарушениям, чем модель без отмены (Островская и др., 2001). В тесте «У-лабиринт» межгрупповых различий не наблюдалось.

Дипептид ГСБ-214 корректировал только нарушения долговременной памяти и не влиял на кратковременную. Это соответствует результатам, ранее полученным нами для ГСБ-214 в физиологических условиях в тесте распознавания нового объекта. Можно предположить, что выявленный эффект ГСБ-214, так же, как и в случае с ГК-2, обусловлен активацией PI3K/AKT пострецепторного сигнального каскада.

Также имеются данные о снижении уровня экспрессии BDNF, TrkB и транскрипционного фактора CREB и в гиппокампе, и коре крыс после однократного и хронического введения скополамина (Bhuvanendran et al., 2018; Ishola et al., 2019; Karthivashan et al., 2019). ГСБ-214 может компенсировать этот дефицит.

Эффекты ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели БА

Модель БА, индуцированной введением стрептозотоцина в желудочки мозга, также широко применяется, является валидированной и хорошо изученной (Kamat et al., 2016; Rai et al., 2013). Диабетогенный токсин стрептозотоксин проникает в клетки, связываясь с транспортером глюкозы 2 за счет схожести по структуре с молекулой сахарозы (Kamat et al., 2016). Внутримозговое введение стрептозотоцина вызывает инсулинорезистентность и нарушение метаболизма глюкозы в головном мозге (Kamat, 2015). Это приводит к развитию нейropатологических признаков, характерных для БА, таких как аккумуляция β -амилоида и гиперфосфорилированного тау-белка, окислительный стресс, гибель нейронов и синапсов (Afshar et al., 2018; Bassani et al., 2017; Ravelli et al., 2017; Salkovic-Petrisic et al., 2007). Как и в случае скополаминовой модели БА, наблюдается снижение экспрессии BDNF, CREB и TrkB (Luo et al., 2019; Tiwari et al., 2021).

Как скополаминовая, так и стрептозотоциновая модели БА ассоциированы с нарушениями памяти, что находит подтверждение в результатах поведенческих тестов (Afshar et al., 2018; Аукас et al., 2019). В нашем исследовании для оценки памяти мы использовали тест распознавания нового объекта и У-лабиринт.

В условиях стрептозотоциновой модели мы наблюдали нарушения только кратковременной памяти в тесте распознавания нового объекта (в тесте «У-лабиринт»

межгрупповых различий в не наблюдалось), что может свидетельствовать об относительно слабо выраженных нейродегенеративных изменениях, характерных для ранней БА. Известно, что при БА в первую очередь поражается кратковременная память (Porsteinsson et al., 2021). ГСБ-214 полностью восстанавливал данное нарушение. Предположительно, это восстановление происходило за счет нейропротекции, вызванной активацией PI3K/AKT сигнального каскада.

Возможным механизмом положительных эффектов ГСБ-214 может быть активация аутофагии в нейронах. Известно, что одним из факторов, способствующих нейродегенерации при БА, является нарушение созревания аутофаголизосом, т.е. слияния аутофагосом с лизосомами (Uddin et al., 2018). Полноразмерный BDNF регулирует этот процесс за счет PI3K/AKT/mTOR/p70S6K сигнального пути (Chen et al., 2013a).

Интересно отметить в связи со схожестью патогенеза БА и сахарного диабета (Munõz-Jiménez et al., 2020), что при изучении антидиабетических свойств миметиков NGF и BDNF было показано, что эти свойства проявляют соединения, которые *in vitro* активируют PI3K/AKT и PLC- γ сигнальные каскады без влияния на MAPK/ERK – наиболее активными также оказались ГК-2 и ГСБ-214 (Ягубова и др., 2020).

Дополнительно с помощью Вестерн-блот анализа было оценено влияние ГСБ-214 на иммунореактивность к APP в коре и гиппокампе. Не было выявлено статистически значимых отличий в уровне APP в гиппокампе. В коре APP был значимо снижен у мышей, получавших STZ, по сравнению с контрольной группой. Животные, получавшие ГСБ-214, не отличились по уровню APP ни от ложнооперированных, ни от STZ животных.

В норме APP участвует в процессах формирования, созревания и поддержания нейронных сетей. Предполагается, что APP регулирует сигнальные пути, которые приводят к модификации цитоскелета. Было показано, что APP колокализуется с интегринами и физически взаимодействует с ними (Hoe et al., 2009; Young-Pearse et al., 2008). Интегрины участвуют в росте нейритов, адгезии и миграции клеток, перестройке цитоскелета (Kiryushko et al., 2004). Интегрин $\beta 1$ и рилин значительно снижают интернализацию APP и увеличивают его присутствие на мембране и его последующую секрецию (Hoe et al., 2009). Другой эффектор APP – трозинкиназа Abl, участвующая в полимеризации актина (Moresco, 2003). Так APP подобный белок дрозофилы APPL модулирует передачу сигналов Wnt/Planar Cell Polarity (Wnt/PCP) посредством фосфорилирования адаптерного белка Wnt – Disheveled с помощью Abl (Leyssen et al., 2005). Кроме того, в присутствии Netrin-1 APP взаимодействует с рецептором, помогающем навигации аксонов в пространстве во время роста, Deleted in Colorectal Carcinoma (DCC) и усиливает ERK1/2 сигналинг, опосредованный DCC (Soldano et al., 2014). Еще одним потенциальным модулятором APP является JNK киназа. Фосфорилирование внутриклеточного домена APP с помощью JNK вовлечено в регуляцию локализации APP в конусах роста и нейритах. Интересно, что экспрессия APP и активация JNK одновременно индуцируются в условиях стресса и травмы (Muresan et al., 2005).

На STZ модели были выявлены изменения в экспрессии генов, связанных с процессингом APP. По данным RT-qPCR экспрессия генов, кодирующих семейство α -секретазы (*ADAM10* и *ADAM17*), β -секретазы (*BACE1*) и γ -секретазы (*PSEN2*, *NCSTN*, *APH1A* и *PSENEN*), была повышена в коре, но не гиппокампе. Экспрессия гена *APP* оказалась без значимых изменений (Park et al., 2015). Таким образом, можно предположить, что снижение уровня APP у крыс,

получивших STZ, происходило за счет усиления его процессинга, в том числе и амилоидогенного.

Снижение APP в префронтальной коре, но не в гиппокампе, хорошо соотносится с результатами поведенческих тестов. Так, нарушения наблюдались в тесте распознавания нового объекта, отражающего объектную память, но не в Y-лабиринте, больше отражающем пространственную рабочую память. Возможно, ГСБ-214 в какой-то степени компенсирует это, так как полноразмерный BDNF уменьшает активность β -секретазы (BACE1) в коре, но не гиппокампе (Baranowski et al., 2021; Baranowski et al., 2023).

Острые эффекты миметиков NGF и BDNF на базовую синаптическую передачу

В настоящей работе были изучены эффекты острой аппликации миметика NGF ГК-2, а также миметиков BDNF ГСБ-106 и ГСБ-214 на срезы гиппокампа в наиболее активных *in vitro* концентрациях.

Помимо длительных изменений синаптической передачи важной формой синаптической пластичности являются кратковременные изменения (или кратковременная пластичность) в пресинаптическом окончании, которая отражает изменения выброса нейромедиатора, продолжающееся от миллисекунд до нескольких секунд или минут. Стандартным подходом к оценке кратковременной пластичности является измерение отношения угла наклона второго вызванного ответа к углу наклона первого (paired-pulse ratio, PPR) при парной стимуляции с межстимульными интервалами до 500 мс (Regehr, 2012). Изменения в этом параметре означают вовлечение пресинаптического механизма выброса медиатора. Пары стимулов с интервалом в 15, 50, 150 и 400 мс вызывали практически идентичные PPR до аппликации ГК-2 (1 мг/л) и после 30-й минуты отмывания вещества. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния ГК-2 на базовую синаптическую передачу в поле CA1 гиппокампа, а также кратковременную пластичность при остром воздействии этого препарата *in vitro*.

В литературе описано влияние полноразмерного NGF на синаптическую передачу и пластичность в гиппокампе (Kang et al., 1995). И хотя в исследованиях *ex vivo* эффекта острой аппликации NGF обнаружено не было, хорошо известно о выраженном его влиянии на синаптические процессы при хроническом воздействии, которое, возможно, опосредованно его влиянием на отдаленные от самого гиппокампа структуры (Dobryakova et al., 2021; Ivanov et al., 2015). Также описано отсутствие влияния NGF на PPR, соотношение не отличалось у мышей дикого типа и мышей с нокаутом гена *Ngf* (*Ngf* cKO) (Eu et al., 2021). Этим можно объяснить отсутствие эффекта миметика при краткосрочном воздействии непосредственно на срез гиппокампа. Однако стоит отметить, что миметик не в точности повторяет биохимический профиль активности полноразмерного NGF, в частности, не активирует MAPK/ERK сигнальный путь (Gudasheva et al., 2015; Gudasheva et al., 2020). Потому при оценке его влияния на поведение возможны отличия от NGF воздействия на синаптическую передачу.

Острая аппликация *ex vivo* миметика BDNF ГСБ-214 не оказала влияния на вызванные фокальные потенциалы (угол наклона ВПСП и амплитуду ПД) пирамидных нейронов CA1 при стимуляции коллатерали Шаффера и величину PPR. При этом было обнаружено, что при аппликации ГСБ-106 в концентрации 1 мкМ происходит медленно развивающаяся потенциация популяционного потенциала действия до $169 \pm 17\%$ от фонового уровня, эффект при этом не

обнаруживался в фВПСР. В исследованиях влияния полноразмерного BDNF на вызванную синаптическую активность, было обнаружено быстрое (минуты) и значительное изменение базовых свойств синаптической передачи у 1,5-месячных крыс в поле СА3–СА1 гиппокампа без тетанизации – почти трехкратное увеличение ответа, сохраняющиеся часы (Kang et al., 1995). Этот эффект получил название BDNF-LTP и наблюдается даже в условиях блокады NMDA рецепторов (Messaoudi et al., 2002). BDNF-LTP был обнаружен также в зубчатой извилине и неокортексе (Bramham et al., 2010; Escobar et al., 2003).

ГСБ-106 и ГСБ-214 отличаются по паттерну активации пострецепторных сигнальных каскадов *in vitro*: ГСБ-214 не активирует MAPK/ERK каскад (Gudasheva et al., 2015; Gudasheva et al., 2016; Gudasheva et al., 2017b). Внутригиппокампальная инфузия BDNF вызывает BDNF-LTP в синапсах гранулярных клеток зубчатой извилины у живых анестезированных крыс через путь MAPK/ERK. Ингибиторы MEK блокируют индукцию BDNF-LTP *in vivo*. Однако введение ингибитора после индукции BDNF-LTP не оказывало влияния на величину ответа (Ying et al., 2002). Таким образом активация MEK-ERK необходима для индукции, но не поддержания BDNF-LTP, что может объяснить отсутствие эффектов при аппликации ГСБ-214, но не ГСБ-106.

BDNF-LTP также связана с ERK-зависимой активацией CREB и раннего гена регулятора синаптической пластичности Arc/Arg3.1 (Guzowski et al., 2000). Ингибирование трансляции Arc/Arg3.1 перед инфузией BDNF блокировало как индукцию BDNF-LTP, так и связанные с ней нейрогенные эффекты – нивелируя рост BrdU⁺ клеток, вызванный BDNF (Kuipers et al., 2016).

Пресинаптические эффекты экзогенного BDNF связывают с модуляцией эффективности везикулярного высвобождения глутамата в синапсах. Молекулярные механизмы, лежащие в основе таких эффектов нейротрофина, вероятно, включают фосфорилирование белков, которые регулируют доступность везикул для высвобождения пресинаптическим окончанием и вовлечение моторных комплексов, которые перемещают синаптические везикулы вдоль актинового цитоскелета (Leal et al., 2017).

Постсинаптические функции BDNF в синаптической пластичности в значительной степени объясняются модуляцией глутаматных рецепторов. BDNF увеличивает трафик и синаптическую доставку AMPA рецепторов в срезах гиппокампа и культурах нейронов гиппокампа. Также было показано, что BDNF модулирует транспорт NMDA рецепторов, состояние фосфорилирования и вероятность открытия, что регулирует синаптическую передачу в нейронах гиппокампа (Caldeira et al., 2007a).

Вклад в синаптическую пластичность может вносить и PLC- γ 1 каскад. Активация этого пути напрямую связана с повышением уровня внутриклеточного Ca²⁺ за счет его высвобождения из внутриклеточных запасов и с активацией Ca²⁺-кальмодулинзависимой киназы (CaMKII). Повышение внутриклеточного Ca²⁺ является одним из наиболее важных биохимических результатов передачи сигналов BDNF в постсинаптической клетке. Особенно отметим, данные указывают на то, что Ca²⁺-регулируемая трансляция мРНК происходит локально в постсинаптических сайтах. Этот механизм обеспечивает средства для быстрой и адресной экспрессии индуцированных активностью генных продуктов, таких как BDNF, в активированных синапсах. Более того, было показано, что активированный CaMKII фактор транскрипции CREB распознает CRE и регуляторные элементы CaRE в гене *Bdnf*, активируя его транскрипцию. Таким образом, BDNF может регулировать собственную экспрессию

посредством активации передачи сигналов CaMKII (Cunha, 2010). Повышение внутриклеточного Ca^{2+} повышает вероятность индукции и поддержания HFS-LTP (Korte, 2015). BDNF-LTP также связана с ранним геном белка пентраксина-2, регулирующего нейронную активность, (NPTX2 или Narp). Активация его экспрессии блокируется при ингибировании PLC- γ 1 и MAPK/ERK каскада, но не PI3K/AKT (Mariga et al., 2015).

PLC- γ 1 каскад может опосредовать активацию MAPK через белок Ras и независимым от Ras способом. Кроме того, фармакологическое ингибирование активности PI3K в свою очередь подавляет активацию Ras и фосфорилирование MAPK (Kranenburg et al., 2001). Предположительно, активация всех сигнальных каскадов миметиком ГСБ-214 позволяет добиться большей степени активации MAPK/ERK, вносящего основной вклад в индукцию BDNF-LTP.

Аппликация ГСБ-106 привела к увеличению амплитуды фПД, но не угла наклона фВПСП. Последний отражает размер возбуждающего импульса, идущего к дендритным полям пирамидных нейронов, в то время как фПД отражает количество синхронно активирующихся нейронов в пирамидальном слое (Lei et al., 2016). Повышенная возбудимость клеток наблюдается при эпилепсии, нейропатической боли и других патологиях. Синаптическое торможение в центральных нейронах опосредуется γ -аминомасляной кислотой (ГАМК) и глицином (Gly), которые активируют ионные каналы ($GABA_A$ R и GlyR), делая их проницаемыми для анионов хлорида (Cl^-) и бикарбоната (HCO_3^-). Вклад Cl^- гораздо более существенный, его гомеостаз поддерживается катион-хлорными котранспортерами (CCC). BDNF подавляет ГАМКергическую передачу в зрелых нейронах, а также подавляет активность K^+ - Cl^- -котранспортера 2 (KCC2), являющегося основной изоформой CCC, экспрессируемой в центральных нейронах (Ferrini et al., 2013). BDNF снижает транскрипцию субъединицы $\alpha 1$ $GABA_A$ R за счет факторов транскрипции CREB и ICER (Lund et al., 2008). Посредством MAPK-опосредованного фосфорилирования BDNF активирует нейрональную протеазу м-кальпаин, которая приводит к необратимой инактивации KCC2 (Lee-Hotta et al., 2019).

Таким образом, предположительно, острые эффекты ГСБ-106 объясняются активацией MAPK/ERK каскада. Кроме того, в этом контексте наши данные показывают, что долговременные эффекты ГК-2 и ГСБ-214, выявленные в поведенческих тестах в настоящем и ранее проведенных исследованиях, могут быть опосредованы внутриклеточными механизмами или непрямыми эффектами этих миметиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено изучение димерных дипептидных миметиков отдельных петель нейротрофинов NGF и BDNF на предмет их мнемотропной активности. Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной причиной деменции, а существующие препараты не способны остановить или значительно замедлить развитие болезни. Одной из основных причин отсутствия эффективных препаратов является невозможность в настоящее время моделирования всего спектра изменений, наблюдаемых при БА у человека. Используемые модели, отражают только часть аспектов этого заболевания, в связи с этим использование разных моделей является перспективным путем для оценки эффективности потенциальных терапевтических агентов.

Результаты исследований пациентов тесно связывают патофизиологию БА с нарушениями нейротрофической системы мозга, поэтому изучение путей воздействия на эту систему является актуальным.

Сконструированные и синтезированные в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова под руководством член-корр. РАН Т.А. Гудашевой димерные дипептидные миметики отдельных петель NGF и BDNF были изучены при однократном введении в тесте распознавания нового объекта, а также в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера. В результате проведенного исследования было установлено, что при однократном введении в физиологических условиях мнемотропными эффектами обладают ГК-2 в дозах 0,5 и 1 мг/кг и ГСБ-214 в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг, активирующие в экспериментах *in vitro* PI3K/АКТ и PLC-γ сигнальные каскады без влияния на MAPK/ERK. Также было установлено, что зависимость мнемотропной активности ГСБ-214 и ГК-2 от дозы носит колоколообразный характер. С помощью фармакологического ингибиторного анализа было показано, что блокатор TrkB рецепторов K252A полностью снимает мнемотропное действие ГСБ-214. Это свидетельствует о том, что активность ГСБ-214, как и в случае с полноразмерным BDNF, опосредована активацией TrkB рецепторов.

В условиях скополаминовой модели БА в тесте распознавания нового объекта у крыс из опытной группы, не получавших лечение, были выявлены нарушения памяти. При этом другие проведенные поведенческие тесты указывали на отсутствие изменений в тревожности животных или их двигательной активности, что свидетельствует о том, что в эксперименте были смоделированы специфические патологические изменения, характерные для ранней стадии БА. Как ГК-2, так и ГСБ-214 корректировали нарушения памяти, однако, так как в физиологических условиях, ГСБ-214 оказывал мнемотропный эффект в дозах более низких, чем ГК-2, именно миметик BDNF был отобран для дополнительных исследований на стрептозотоциновой модели, где также оказался активен, корректируя нарушения памяти.

Для изучения механизмов действия миметиков были проведены электрофизиологические эксперименты на переживающих срезах гиппокампа, в результате которых соединения не оказывающие влияния на MAPK/ERK, не вызвали изменений в параметрах базовой синаптической передачи. Миметик BDNF ГСБ-106, активирующий в экспериментах *in vitro* все сигнальные каскады, вызвал рост амплитуды фПД в концентрации 1 мкМ. Следовательно, возможно, мнемотропные эффекты ГК-2 и ГСБ-214 обусловлены внутриклеточными механизмами, но не изменениями ионной проводимости.

Основываясь на разнице в паттернах активации пострецепторных сигнальных каскадов исследованных миметиков, можно заключить, что активация PI3-киназного и фосфолипидного путей тирозинкиназных рецепторов нейротрофинов NGF и BDNF улучшает долговременную память, но не влияет на базовые параметры синаптической передачи в гиппокампе. Активация MAPK каскада, вероятно, в большей степени приводит к увеличению возбудимости нейронов, связанную с Ca²⁺ сигналингом, и запуском процессов, не связанных с долговременной памятью. В связи с вовлеченностью MAPK каскада в нейровоспалительный процесс отсутствие его активации может являться дополнительным преимуществом новых разрабатываемых препаратов.

Таким образом, показано, что среди исследованных димерных дипептидных миметиков нейротрофинов наиболее активным и перспективным соединением для дальнейшей разработки в качестве потенциального препарата для терапии БА является миметик 1-й петли BDNF ГСБ-214.

ВЫВОДЫ

1. Миметик 4-й петли фактора роста нервов (NGF) ГК-2 при однократном внутривбрюшинном введении в дозах 0,5 и 1 мг/кг вызывает улучшение долговременной памяти, что выражается в повышении коэффициента дискриминации (КД) в тесте распознавания нового объекта у крыс.
2. Миметик 1-й петли мозгового нейротрофического фактора (BDNF) ГСБ-214 повышает КД в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг.
3. Зависимость мнемотропной активности ГК-2 и ГСБ-214 от дозы носит колоколообразный характер.
4. Мнемотропная активность дипептида ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта опосредована активацией Trk рецепторов.
5. Курсовое введение дипептидов ГК-2 и ГСБ-214 корректирует нарушения долговременной памяти в тесте распознавания нового объекта, не оказывая влияния на нарушения кратковременной памяти, на модели холинергического дефицита.
6. Дипептид ГСБ-214 корректирует нарушения кратковременной памяти в тесте распознавания нового объекта, вызванные введением стрептозотоцина.
7. В модели переживающих срезов гиппокампа аппликация 1 мкМ ГК-2 и ГСБ-214 не влияет на базовые параметры синаптической передачи в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля CA1.
8. Миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106, активирующий в отличие от ГСБ-214 *in vitro* MAP-киназный каскад, увеличивает амплитуду фокальных потенциалов действия, но не улучшает долговременную память.
9. Активация PI3-киназного и фосфолипазного путей тирозинкиназных рецепторов нейротрофинов NGF и BDNF улучшает долговременную память, но не влияет на базовые параметры синаптической передачи в гиппокампе.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах Scopus, WoS, RSCI и в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных:

1. **Волкова А.А.**, Поварнина П.Ю., Никифоров Д.М., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Сравнительное изучение мнемотропной активности димерных дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF в тесте распознавания нового объекта у крыс //Химико-фармацевтический журнал. – 2022. – Т. 56. – №. 4. – С. 3-6. (WOS (перев.), Scopus (перев.), RSCI, BAK, IF = 0,776) (0,462/0,3)*
2. Поварнина П.Ю., **Волкова А.А.**, Воронцова О.Н., Каменский А.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Низкомолекулярный миметик BDNF, дипептид ГСБ-214, предотвращает ухудшение памяти у крыс на моделях болезни Альцгеймера //Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2022. – Т. 14. – №. 4. – С. 94-100. (WOS (перев.), Scopus (перев.), RSCI, IF = 1,77) (0,809/0,4)*
3. **Волкова А.А.**, Поварнина П.Ю., Рогозин П.Д., Кондратенко Р.В., Шаронова И.Н., Каменский А.А., Скребицкий В.Г. Влияние низкомолекулярного миметика фактора роста нервов ГК-2 на когнитивные функции и свойства синаптической передачи в срезах гиппокампа // Нейрохимия. – 2023. – Т. 40. – №. 2. – С. 166-171. (WOS (перев.), RSCI, BAK, IF = 0,534) (0,693/0,48)*

* – Объем в усл. печ. л./вклад автора в усл. печ. л.

Патенты:

1. Кожемякин М.Б., Кондратенко Р.В., **Волкова А.А.**, Воробьев В.С., Шаронова И.Н., Скребицкий В.Г., Колбаев С.Н. Устройство для изготовления срезов биологических тканей // Патент РФ №214839. 2022. Бюл. №32

Тезисы докладов:

1. **Волкова А.А.** Сравнительное изучение мнемотропной активности димерных дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2021.
2. **Volkova A.**, Vorontsova O., Povarnina P., Gudasheva T., Kamensky A. Nootropic effects of the brain neurotrophic factor dipeptide mimetic GSB-214 in models of Alzheimer's disease // European Neuropsychopharmacology. — V. 53. — Netherlands: Elsevier BV, 2021. — P. P.0742.
3. **Волкова А.А.**, Поварнина П.Ю. Когнитотропные эффекты дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-214 на моделях болезни Альцгеймера // III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ ♦ VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ ♦ VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ ♦ X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ» (Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021). НАУЧНЫЕ ТРУДЫ. Том 1. – М.: Издательство «Перо», 2021. – С.17-18.
4. **Волкова А.А.**, Рогозин П.Д. Зависимость мнемотропного эффекта димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 от дозы в тесте распознавания нового объекта. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2023» / Отв. ред. И.А. Алешковский, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов, Е.И. Зимакова.

[Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2023.

5. Рогозин П.Д., **Волкова А.А.** Влияние низкомолекулярных миметиков различных петель BDNF на память и свойства синаптической передачи в срезах гиппокампа // Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И. П. Павлова. Санкт-Петербург, 11–15 сентября 2023 г. / Под общ. ред. член-корр. РАН, д. б. н. М. Л. Фирсова. – СПб.: Изд-во ВВМ, 2023. – С.46-47.
6. **Волкова А.А.**, Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А. Мнемотропные эффекты дипептидного миметика фактора роста нервов в норме и на модели болезни Альцгеймера // Материалы VI съезда фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства». – 2023. – Т. 86. – №. 11s. – С. 30.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- Akt – серин-треониновая протеинкиназа (threonine-protein kinase)
- APP – белок-предшественника амилоида
- A β – β -амилоид
- BDNF – нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor,)
- Erk – внеклеточная сигнал регулируемая киназа (extracellular signal-regulated kinase)
- LTP – долговременная потенцияция (long-term potentiation)
- MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа (mitogen-activated protein kinase)
- mTOR – мишень рапамицина млекопитающих
- NGF – Фактор роста нервов (nerve growth factor)
- NMDA – N-метил-D-аспарагиновая кислота
- p75NTR – 75kDa pan neurotrophin receptor
- PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа (phosphatidylinositol-3-kinase)
- PLC- γ 1 – фосфолипаза C- γ 1
- PPR – paired-pulse ratio
- SC – скополамин
- STZ – стрептозотозин
- TrkA – тирозинкиназные рецепторы типа A (tropomyosin-related kinase A)
- АЦХ – Ацетилхолин
- БА – болезнь Альцгеймера
- ВОЗ – Всемирной организации здравоохранения
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
- ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
- КД – коэффициент дискриминации
- КШ – коллатерали Шаффера
- фВПСП – фокальный возбуждающий постсинаптический потенциал
- фПД – фокальный потенциал действия