

УДК 577.084.1

# Специфическая активность амидной формы пептида HLDF-6: изучение на трансгенной модели болезни Альцгеймера

А. П. Богачук<sup>1\*</sup>, З. И. Сторожева<sup>2</sup>, Г. Б. Телегин<sup>3</sup>, А. С. Чернов<sup>3</sup>, А. Т. Прошин<sup>4</sup>,  
В. В. Шерстнев<sup>4</sup>, Ю. А. Золотарев<sup>5</sup>, В. М. Липкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

<sup>2</sup>Федеральный медицинский исследовательский центр наркологии и психиатрии им. В.П. Сербского Минздрава России, 119034, Москва, Кропоткинский пер., 23

<sup>3</sup>Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, просп. Науки, 6

<sup>4</sup>Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАН, 123315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>5</sup>Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, пл. Курчатова, 2

\*E-mail: apbog@mx.ibch.ru

Поступила в редакцию 04.07.2016

Принята к печати 24.05.2017

**РЕФЕРАТ** Нейропротекторная и ноотропная активности амидной формы (АФ) пептида HLDF-6 (TGENHR-NH<sub>2</sub>) изучены на трансгенных мышях линии B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>de9</sup>)85Dbo (Tg+) – животной модели наследственной болезни Альцгеймера (БА). Исследования проведены на четырех группах мышей: группа 1 (экспериментальная) – мыши Tg+, которым интраназально вводили пептид в дозе 250 мкг/кг; группа 2 (активный контроль) – мыши Tg+, которым интраназально вводили физиологический раствор; группа 3 (контроль-1) – мыши Tg-; группа 4 (контроль-2) – мыши линии C57Bl/6. Когнитивные функции оценивали с использованием теста распознавания объекта, теста пассивного избегания и лабиринта Морриса. Показано, что фармацевтическая субстанция (ФС) на основе АФ пептида HLDF-6 в условиях интраназальной доставки в дозе 250 мкг/кг эффективно восстанавливает нарушенные когнитивные функции у трансгенных мышей Tg+. Эти результаты полностью согласуются с данными, полученными на животных моделях болезни Альцгеймера, которым фрагмент (25–35) бета-амилоида (βA) вводили в базальное гигантоклеточное ядро Мейнерта, в гиппокамп вводили одновременно фрагмент βA и иботеновую кислоту, а также при ишемическом инсульте (хроническая окклюзия сонных артерий – 2VO). Исходя из полученных результатов, для проведения доклинических исследований выбрали ФС на основе АФ пептида HLDF-6, и в качестве эффективной терапевтической дозы – 250 мкг/кг ФС. Способ доставки – интраназальное введение.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** амидная форма пептида HLDF-6, болезнь Альцгеймера, нейропротекторная и ноотропная активности, трансгенные мыши, фактор дифференцировки HLDF.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** HLDF – фактор дифференцировки лейкозных клеток человека (Human Leukemia Differentiation Factor); АФ – амидная форма; НФ – нативная форма; БА – болезнь Альцгеймера; ИИ – ишемический инсульт; ФС – фармацевтическая субстанция; βA – бета-амилоид.

## ВВЕДЕНИЕ

К числу важнейших медико-социальных проблем современности относятся цереброваскулярные и нейродегенеративные заболевания, являющиеся основной причиной смертности и инвалидизации населения России и зарубежных стран. К нейроде-

генеративным заболеваниям относится наиболее распространенная болезнь Альцгеймера (БА), диагностированная почти у 44 млн человек [1]. БА прогрессирует медленно, но неотвратимо и ведет к «отключению» важнейшего органа – головного мозга и расстройству ряда функций организма человека.

В последнее десятилетие болезнь Альцгеймера признана одной из четырех главных медико-социальных проблем современного общества.

Одним из серьезнейших цереброваскулярных заболеваний является ишемический инсульт (ИИ). Ежегодно в мире регистрируется более 15 млн случаев инсульта [2], в том числе более 450000 в России. К существенным недостаткам лекарственных средств, используемых при БА и ИИ и резко ограничивающих область их применения, относятся нежелательные побочные эффекты, а также привыкание либо недостаточная эффективность. Все это требует принятия неотложных мер для создания и внедрения в медицинскую практику новых эффективных препаратов для профилактики и лечения этих заболеваний.

Фактор дифференцировки HLDF (Human Leukemia Differentiation Factor) был обнаружен и выделен нами в 1994 году из среды культивирования клеток линии HL-60, обработанных ретиноевой кислотой [3]. При изучении фактора HLDF был идентифицирован его шестичленный фрагмент TGENHR (пептид HLDF-6), полностью воспроизводящий дифференцирующую активность полноразмерного фактора и обладающий широким спектром ноотропной и нейропротекторной активностей. На первичной культуре нейрональных клеток гиппокампа, мозжечка, а также иммунокомпетентных клеток получены прямые доказательства нейропротекторного эффекта пептида HLDF-6. Этот пептид проявляет антиапоптотическую активность, защищая клетки от действия пептида бета-амилоида ( $\beta$ A), азида натрия, церамида, этанола, а также от холодового стресса и гипоксии. Пептид HLDF-6 повышает жизнеспособность ранних зародышей мышей в условиях *in vitro* [4–7].

Изучение действия пептида HLDF-6 на разных видах животных, проведенное с использованием различных экспериментальных моделей (водный лабиринт Морриса, модели пассивного избегания, отсроченного выбора положения, зоосоциального узнавания), показало, что центральное и системное введение пептида здоровым животным приводит к улучшению формирования и сохранения долговременной памяти. На экспериментальных моделях клинической патологии (БА и ИИ) показано, что пептид снижает выраженный когнитивный дефицит и способствует восстановлению нарушенной памяти [8, 9]. Введение HLDF-6 животным с хронической ишемией головного мозга обеспечивает достоверный нейропротекторный эффект, защищая нейроны мозга от гибели в условиях ишемии [10].

Изучение фармакокинетики пептида HLDF-6 показало, что пептид обладает чрезвычайно низкой

устойчивостью в организме животных – период полудеградации пептида в плазме крови крысы равен 2 мин. Гидролиз HLDF-6 происходит с С-конца, и основной вклад в него вносят дикарбоксипептидазы [11]. Для защиты пептида от дикарбоксипептидаз использовали амидирование его С-концевой карбоксильной группы. Показано, что период полудеградации амидной формы (АФ) пептида HLDF-6 (TGENHR-NH<sub>2</sub>) в плазме крови крысы составляет 8 мин, что значительно выше, чем у нативной формы (НФ) пептида (TGENHR-OH) [12].

С целью выбора наиболее эффективной формы пептида HLDF-6 для исследования ее в качестве фармацевтической субстанции (ФС) мы провели расширенное сравнительное изучение нейропротекторной и ноотропной активности образцов ФС на основе АФ и НФ пептида HLDF-6 на животных моделях БА и ИИ. На первом этапе мы выявили нейропротекторную и ноотропную активность ФС на основе пептида HLDF-6 в моделях спорадической болезни Альцгеймера. Были использованы следующие модели: а) нарушение когнитивных функций при введении фрагмента (25–35) бета-амилоида в базальное гигантоклеточное ядро крыс Вистар; б) нарушение когнитивных функций при совместном введении фрагмента (25–35) бета-амилоида и иботеновой кислоты в гиппокамп крыс Вистар. Сравнительный анализ данных, полученных в обеих моделях БА, показал, что нейропротекторная эффективность АФ пептида HLDF-6, оцениваемая по степени восстановления нарушенных когнитивных функций, значительно превышает эффективность НФ пептида. При использовании АФ пептида HLDF-6 в дозе 250 мкг/кг (гораздо меньшей, чем доза препаратов сравнения) всегда наблюдалось практически полное восстановление функций [12].

В нашей работе представлены результаты изучения специфической активности ФС на основе АФ пептида HLDF-6 на трансгенной модели БА. Трансгенную модель использовали в соответствии с Методическими рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия [13].

Болезнь Альцгеймера – нейродегенеративное заболевание, характеризующееся нарушением когнитивной функции и деменцией. Существуют наследственная и спорадическая формы БА. Наследственная форма передается по аутодоминантному типу. В 1991 году был идентифицирован первый ген, обуславливающий семейную манифестацию БА, – локализованный на хромосоме 21 мутантный ген белка APP – предшественника  $\beta$ A [14]. Позднее были выявлены мутации других генов, повышающие риск развития БА. Наибольшим эф-

фектом из продуктов этих генов обладал пресенилин-1 (ген которого расположен на хромосоме 14), ответственный за 70–80% случаев наследственной БА с ранним началом [15]. Создание трансгенных животных позволяет моделировать молекулярные процессы развития БА в течение всей жизни организма. Основное преимущество трансгенной модели состоит в том, что введение животным генов человека, отвечающих за развитие наследственной формы БА (генов *APP* и пресенилина), приводит к развитию у них патогенетических процессов, сходных с проявлениями БА у человека (образование амилоидных бляшек, окислительный стресс, нарушение холинергической передачи, гибель нейронов). Это позволяет предположить, что процессы, проходящие в ЦНС модельных животных, сходны с процессами при развитии БА у человека. Для изучения потенциальных лекарственных препаратов наиболее подходят так называемые дабл-трансгенные мыши линии *B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>de91</sup>)85Dbo* [16]. Животные этой линии экспрессируют мутантный пресенилин человека и химерный амилоидный белок мышь/человек. Характерной особенностью этой линии является раннее (в возрасте 6–7 месяцев) развитие патологии альцгеймеровского типа, обусловленное ускоренным отложением в мозге бета-амилоидных образований, и нарушение когнитивных функций, оцениваемое в моделях пространственного обучения [17, 18].

Цель нашей работы состояла в изучении нейротропной и ноотропной активности АФ пептида *HLDF-6* на трансгенных мышях *B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>de91</sup>)85Dbo* – животной модели наследственной БА.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Синтез АФ пептида *HLDF-6*

АФ пептида синтезировали по схеме, описанной в [12].

### Экспериментальные животные

В работе использовали здоровых мышей-самцов линии *B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>de91</sup>)85Dbo* (*Tg+*), мышей дикого типа *B6C3* (*Tg-*) и мышей *C57Bl/6*. Мышей весом 28–35 г в возрасте 8 месяцев получали из питомника лабораторных животных Филиала Института биоорганической химии РАН, Пущино. Питомник имеет международную аккредитацию *AAALACi*. Система управления качеством производства лабораторных животных в Питомнике сертифицирована на соответствие международным требованиям *ISO 9001:2008*. Все исследования на животных выполняли согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства

здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н г. Москва «Об утверждении Правил лабораторной практики»), а также рекомендациям, изложенным в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [13]. Были сформированы четыре группы мышей (по 10 особей в каждой): группа 1 (экспериментальная) – мыши *Tg+*, которым интраназально вводили ФС в дозе 250 мкг/кг; группа 2 (активный контроль) – мыши *Tg+*, которым интраназально вводили физиологический раствор; группа 3 (контроль-1) – мыши *Tg-*, которым интраназально вводили физиологический раствор; группа 4 (контроль-2) – мыши линии *C57Bl/6*, которым интраназально вводили физиологический раствор. Введение дополнительной контрольной группы обусловлено тем, что использовали несколько моделей когнитивных функций. Анализ опубликованных данных показывает, что особенности обучения и памяти у мышей *B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>de91</sup>)85Dbo* изучали преимущественно в моделях пространственного обучения, тогда как другие когнитивные модели были исследованы недостаточно [18, 19]. Данные, полученные с использованием пространственного обучения, свидетельствуют, что различия между линиями *B6C3-Tg+* и *B6C3-Tg-* наиболее выражены в моделях с высоким уровнем стресса (например, в лабиринте Морриса, но не в лабиринте Барнес) [20]. В то же время различия между *B6C3-Tg+* и *B6C3-Tg-* выявлены преимущественно в моделях с положительным, а не с отрицательным подкреплением [21]. Когнитивные способности мышей *B6C3-Tg-* также не охарактеризованы в достаточной мере. В связи с этим для оценки обоснованности экспериментальных протоколов мы сочли целесообразным ввести группу дополнительного контроля – мышей линии *C57Bl/6* с достаточно высоким уровнем ориентировочно-исследовательской активности и стрессоустойчивости [22], и с уровнем когнитивных способностей, близким к среднестатистическому [23].

Мы не использовали препарат сравнения, поскольку действие клинически эффективных препаратов (мемантина, донепезила и др.) в этой модели находится на стадии пилотных исследований и не охарактеризовано в достаточной степени [24, 25].

### Протокол введения ФС и тестирования когнитивных функций

Животным группы 1 в течение 30 дней через день (всего 15 инъекций) вводили АФ пептида в дозе 250 мкг/кг интраназально в объеме 10 мкл/кг поровну в обе ноздри, а животным групп 2–4 вводили физиологический раствор по такой же схеме. Когнитивные функции оценивали после окончания инъекций

по следующей схеме: 3–5 дни – тест распознавания объекта; 8–10 дни – тест пассивного избегания; 13–17 дни – тестирование в лабиринте Морриса.

### Тест распознавания нового объекта

Тест распознавания нового объекта проводили при комнатном освещении в камере из серого пластика размером 35 × 35 × 40 см. Тест включал три пятиминутные сессии, разделенные интервалом 24 ч: 1 – без объектов, для адаптации к установке; 2 – с двумя одинаковыми объектами – металлическими цилиндрами диаметром 3 см и высотой 3 см; 3 – с заменой одного из цилиндров на пластиковый куб с длиной ребра 3 см. Поведение животных регистрировали с помощью цифровой видеокамеры и анализировали, используя компьютерную программу EthoVision XT (Noldus). Оценивали уровень ориентировочно-исследовательской активности при ознакомлении с предметами (сессия 2), а также время исследования «знакомых» и «нового» предметов в сессии 3. Индекс распознавания вычисляли по формуле:  $(T_n - T_z) / (T_n + T_z) \times 100\%$ , где  $T_n$  – время исследования «нового» объекта, а  $T_z$  – время исследования «знакомых» объекта во время третьей сессии [26–28].

### Тест пассивного избегания

Тест пассивного избегания проводили в установке Columbus Instruments (США). Экспериментальная камера состояла из двух одинаковых отсеков размером 25 × 40 × 25 см с полом из металлических прутьев. Отсеки соединялись между собой отверстием в общей стенке (8 × 8 см), снабженным гильотинной дверью. Один из отсеков был освещен, другой затемнен. В ходе выработки пассивного избегания животное помещали в освещенный отсек и регистрировали время перехода в темную часть камеры (проявление норкового рефлекса). Сразу после того, как все четыре лапы животного оказывались в темной половине камеры, гильотинная дверь опускалась и мышь подвергали электрокожному раздражению через прутья пола (0.6 мА, 3 с), после чего ее сразу вынимали из камеры и помещали в домашнюю клетку. Через 48 ч после выработки тестировали выработанный навык. Мышь вновь помещали в светлый отсек, и фиксировали время перехода в темную половину [29–31].

### Лабиринт Морриса

Лабиринт Морриса представлял собой круглый бассейн серого цвета диаметром 165 см с высотой стенок 60 см, наполненный водой на высоту 40 см. В центре одного из секторов на 2 см ниже уровня воды располагалась круглая платформа из плексигласа диаметром 9 см. Бассейн находился в комнате с большим количеством обстановочных стимулов (постеры,

шкафы и т.д.), ключевые стимулы над платформой отсутствовали. В ходе обучения животных опускали в воду с четырех разных точек и фиксировали время достижения платформы. После достижения платформы животное оставляли на ней на 15 с, а затем на 2 мин возвращали в домашнюю клетку. Обучение проводили в течение 5 дней [18].

### Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Обработку проводили при помощи программного пакета STATISTICA 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Модель распознавания нового объекта

Исследование объектов в сеансе экспозиции (*таблица*) не выявило значимых отличий в уровне ориентировочно-исследовательской активности между контрольными группами Tg- и C57Bl/6. В то же время у животных группы активного контроля (Tg+

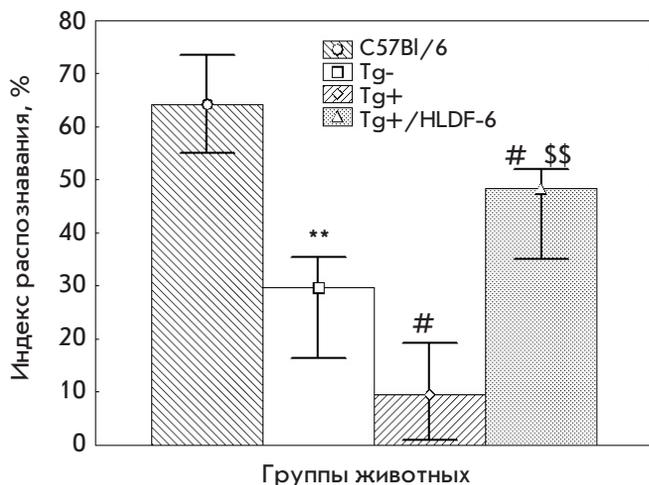
Показатели ориентировочно-исследовательской активности мышей различных групп в модели распознавания объекта

Группа животных	Суммарное время исследования объектов в сеансе экспозиции (2-й день теста), с			Значения Z (стандартизованный критерий U Манна–Уитни) и значимость различий между группами
	Нижний квартиль	Медиана	Верхний квартиль	
1. Tg+ с введением ФС	10.2	13.4	17.4	#Z = 0.22, p = 0.83 *Z = 1.55, p = 0.12
2. Tg+ с введением физ. раствора	7.7	12.3	14.1	*Z = 2.41, p = 0.0156
3. Tg- с введением физ. раствора	15.4	16.0	17.3	&Z = 1.06, p = 0.29
4. C57Bl с введением физ. раствора	10.1	16.6	20.2	

# – Статистическая значимость отличий от группы 2.

\* – Статистическая значимость отличий от группы 3.

& – Статистическая значимость отличий от группы 4.



**Рис. 1.** Показатели долговременной памяти в модели распознавания объекта у мышей различных групп. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. \*\* –  $p < 0.01$  по сравнению с группой C57Bl/6, # –  $p < 0.05$  по сравнению с группой Tg-, \$\$ –  $p < 0.01$  по сравнению с группой Tg+

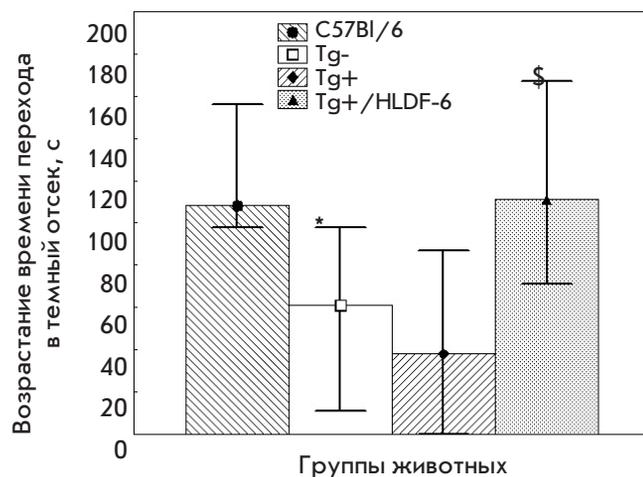
с введением физиологического раствора) исследовательская активность была статистически значимо ниже, чем у мышей группы Tg-. Животные экспериментальной группы не отличались существенно ни от группы активного контроля, ни от мышей Tg-.

Выявлены достаточно высокие значения индекса распознавания объекта, характеризующего декларативную долговременную память, связанную с функциями периринальной коры (участка средней височной извилины), у мышей группы C57Bl/6, сравнимые с опубликованными данными [32]. Обнаружено снижение индекса распознавания у животных контрольной группы Tg- по сравнению с мышами группы C57Bl/6, а также у мышей из группы активного контроля по сравнению с контрольными мышами Tg-. Введение ФС пептида восстанавливало индекс распознавания до уровня, превышающего значения не только в активном контроле, но и в группе Tg- (рис. 1).

### Модель пассивного избегания

Не выявлено статистически значимых межгрупповых различий в длительности латентного периода перехода в темный отсек в день обучения до подачи электрокожного раздражения.

В то же время обнаружены существенные межгрупповые различия по увеличению времени перехода в темный отсек в день тестирования, который характеризует долговременную память (рис. 2).



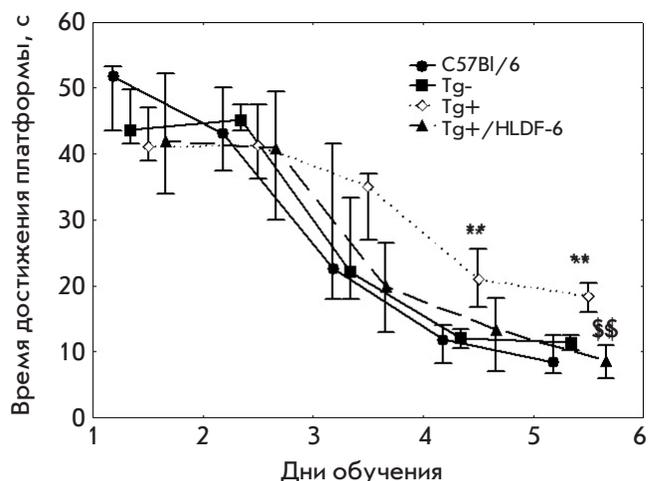
**Рис. 2.** Показатели обучения в модели пассивного избегания у мышей различных групп. По оси ординат – возрастание времени перехода в темный отсек в сеансе обучения по сравнению с сеансом тестирования (с). Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. \* –  $p < 0.05$  по сравнению с группой C57Bl/6, # –  $p < 0.05$  по сравнению с группой Tg+

Сравнение показателей возрастания времени перехода в темный отсек в день тестирования (характеризующего долговременную память) не выявило статистически значимых различий между контрольными группами C57Bl/6 и Tg-, а также между активным контролем и группой Tg-. Животные, получавшие ФС, существенно превосходили группу активного контроля и на уровне тенденции ( $p = 0.062$ ) превосходили группу Tg-.

### Пространственная память в лабиринте Морриса

Показателем долговременной памяти в данной модели служит среднее время достижения платформы на 2–5 дни обучения. Результаты представлены на рис. 3.

Тест Манна–Уитни не выявил статистически значимых различий между контрольными группами (C57Bl/6 и Tg-) ни в один из дней обучения. Животные Tg+, получавшие физиологический раствор, имели существенный дефицит пространственной памяти в 4-й и 5-й дни обучения по сравнению с группой Tg-. Введение ФС приводило к частичному восстановлению пространственной памяти у мышей Tg+. На 4-й день обучения уровень выполнения навыка у животных этой группы занимал промежуточное положение между животными группы Tg+, получавшими физиологический раствор, и животными Tg-. В 5-й день обучения мыши Tg+, получавшие ФС, выполняли задачу существенно лучше, чем



**Рис. 3.** Динамика обучения мышей в водном лабиринте Морриса. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. \*\* –  $p < 0.01$  по сравнению с группой Tg-, \$\$ –  $p < 0.01$  по сравнению с группой Tg+

группа Tg+ с введением физиологического раствора и не отличались значимо от контрольной группы Tg-.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что в условиях интраназальной доставки ФС на основе АФ пептида HLDF-6 в дозе 250 мкг/кг эффективно стимулирует выполнение когнитивных задач трансгенными мышами B6C3-Tg(APP<sup>swe</sup>,PSEN1<sup>de9</sup>)85Dbo во всех использованных моделях. Следует отметить, что результаты, полученные в дополнительной контрольной группе мышей C57Bl/6, подтверждают валидность использованных моделей когнитивных функций. При этом в модели обстановочного пространственного обучения (лабиринт Морриса) динамика обучения контрольной группы Tg- не отличалась от динамики у мышей C57Bl/6. В группе активного контроля выявлено снижение динамики обучения по сравнению с Tg-, а введение ФС оказывало выраженный нейропротекторный эффект с восстановлением показателей обучения до контрольного уровня.

В модели распознавания объекта отмечено существенное снижение показателей обучения в группе Tg- относительно C57Bl/6 и (несколько менее выраженное) в группе активного контроля относительно Tg-; при этом введение ФС приводило к повышению показателя обучения до уровня, превосходящего Tg-.

В модели пассивного избегания также наблюдалось снижение показателей обучения в группе Tg- относительно C57Bl/6. Однако, в отличие от других

тестов, не обнаружено ухудшения обучения животных группы активного контроля в сравнении с Tg-. Введение ФС так же, как и в других моделях, стимулировало долговременную память у трансгенных мышей до уровня, даже несколько превышающего контрольный.

Совокупность полученных данных свидетельствует, что ФС на основе АФ пептида HLDF-6 обладает не только нейропротекторными свойствами, но и ноотропным эффектом, т.е. стимулирует когнитивные функции вне зависимости от наличия нейродегенеративного процесса.

Результаты нашей работы полностью согласуются с данными, полученными на животных моделях БА – фрагмент  $\beta$ A (25–35) вводили в базальное гигантоклеточное ядро Мейнерта, фрагмент  $\beta$ A и иботеновую кислоту совместно вводили в гиппокамп [12]. По совокупности полученных результатов в качестве объекта дальнейших доклинических исследований мы выбрали ФС на основе АФ пептида HLDF-6, за эффективную терапевтическую дозу приняли 250 мкг/кг и интраназальное введение в качестве способа доставки.

Ранее методом радиорецепторного анализа мы провели изучение участия серотониновых, ГАМК и NMDA-глутаматных рецепторов мозга в ноотропном действии АФ пептида HLDF-6. Эти рецепторы участвуют в патогенезе различных неврологических расстройств и хронических нейродегенеративных заболеваний [33, 34]. Было изучено влияние АФ пептида HLDF-6 на характеристики связывания радиоактивно меченных лигандов с NMDA-рецепторами на мембранах гиппокампа, ГАМК-А и серотониновыми 5HT<sub>2A</sub>-рецепторами на мембранах префронтальной коры мышей BALB/c. Показано, что только в случае NMDA-глутаматных рецепторов субхроническое введение пептида в гиппокамп мышей приводит к возрастанию количества связавшегося лиганда (G-3H МК-801) [11], что отражает плотность соответствующих рецепторов. Таким образом, под воздействием АФ пептида HLDF-6 происходит восстановление до нормы количества NMDA-рецепторов, что вызывает улучшение когнитивного поведения. Субхроническое 5-разовое введение АФ пептида HLDF-6 не влияло на плотность ГАМК-рецепторов и никотиновых холинорецепторов, но сопровождалось снижением плотности 5-HT<sub>2</sub>-серотониновых рецепторов [35]. Сделан вывод, что механизм формирования нейропротекторной активности пептида Thr-Gly-Glu-Asn-His-Arg-NH<sub>2</sub> может включать воздействие на глутамат- и серотонинергическую системы.

Пептид HLDF-6 является фрагментом природного фактора дифференцировки HLDF-6, присут-

ствующего в крови и ЦНС млекопитающих и человека. Проведенные нами доклинические испытания лекарственного средства на основе АФ пептида HLDF-6 показали, что оно хорошо растворимо, легко метаболизируется, не обладает иммуногенностью и токсичностью, характеризуется высокой эффективностью специфической активности, безопасно в дозе, в 10 раз превышающей терапевтическую. Результаты доклинических исследований позволяют надеяться на успешное проведение клинических исследований препарата. Можно рассчитывать,

что в этом случае препарат найдет широкое применение в терапии БА. ●

*Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации (государственный контракт № 14N08.11.0002) и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».*

*Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБХ, поддержанного Минобрнауки России, идентификатор соглашения RFMEFI62117X0018.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Prince M., Albanese E., Guerchet M., Prina M. // World Alzheimer Report. 2014. Website www.alz.co.uk/worldreport.
- Feigin V.L., Forouzanfar M.H., Krishnamurthi R., Mensah G.A., Connor M., Bennett D.A., Moran A.E., Sacco R.L., Anderson L., Truelsen T., et al. // Lancet. 2010. V. 383. № 9913. P. 245–255.
- Kostanyan I.A., Astapova M.V., Starovoytova E.V., Dranitsyna S.M., Lipkin V.M. // FEBS Lett. 1994. V. 356. № 2–3. P. 327–329.
- Костанян И.А., Астапова М.В., Наволоцкая Е.В., Лепихова Т.Н., Драницина С.М., Телегин Г.Б., Родионов И.Л., Байдакова Л.К., Золотарев Ю.А., Молотковская И.М., Липкин В.М. // Биоорган. химия. 2000. Т. 26. № 7. С. 505–511.
- Сахарова Н.Ю., Костанян И.А., Лепихова Т.Н., Лепихов К.А., Наволоцкая Е.В., Малашенко А.М., Томбран-Тинк Дж., Липкин В.М., Чайлахян Л.М. // Докл. АН. 2000. Т. 372. № 2. С. 260–263.
- Rzhevsky D.I., Zhokhov S.S., Babichenko I.I., Goleva A.V., Goncharenko E.N., Baizhumanov A.A., Murashev A.N., Lipkin V.M., Kostanyan I.A. // Regul. Peptides. 2005. V. 127. № 1. P. 111–121.
- Костанян И.А., Жохов С.С., Сторожева З.И., Прошин А.Т., Сурина Е.А., Бабиченко И.И., Шерстнев В.В., Липкин В.М. // Биоорган. химия. 2006. Т. 32. № 4. С. 399–407.
- Sewell R.D., Gruden M.A., Pache D.M., Storozheva Z.I., Kostanyan I.A., Proshin A.T., Yurashev V.V., Sherstnev V.V. // J. Psychopharmacol. 2005. V. 19. № 6. P. 602–608.
- Сторожева З.И., Прошин А.Т., Жохов С.С., Шерстнев В.В., Родионов И.Л., Липкин В.М., Костанян И.А. // Бюл. эксп. биол. мед. 2006. Т. 141. № 3. С. 292–296.
- Костанян И.А., Сторожева З.И., Семенова Н.А., Липкин В.М. // Докл. АН. 2009. Т. 428. № 4. С. 565–569.
- Золотарев Ю.А., Ковалёв Г.И., Дадаян А.К., Козик В.С., Кондрахин Е.А., Васильева Е.В., Липкин В.М. // Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма / Под ред. Угрюмова М.В. М.: Научный мир, 2014. Т. 2. С. 763–777.
- Bogachouk A.P., Storozheva Z.I., Solovjeva O.A., Sherstnev V.V., Zolotarev Yu.A., Azev V.N., Rodionov I.L., Surina E.A., Lipkin V.M. // J. Psychopharmacol. 2016. V. 30. № 1. P. 78–92.
- Бунятян Н.Д., Миронов А.Н., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журавлева М.М., Лепяхин В.К., Коробов Н.В., Меркулов В.А., Орехов С.Н., Сакаева И.В. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 942 с.
- Goate A., Chartier-Harlin M.C., Mullan M., Brown J., Crawford F., Fidani L., Giuffra L., Haynes A., Irving N., James L., et al. // Nature. 1991. V. 349. № 6311. P. 704–706.
- Selkoe D.J. // Nature. 1999. V. 399. (6738 suppl.). P. A23–A31.
- Jankowsky J.L., Slunt H.H., Ratovitski T., Jenkins N.A., Copeland N.G., Borchelt D.R. // Biomol. Eng. 2001. V. 17. № 6. P. 157–165.
- Su D., Zhao Y., Xu H., Wang B., Chen X., Chen J., Wang X. // PLoS One. 2012. V. 7. № 11. e50172.
- McKenna J.T., Christie M.A., Jeffrey B.A., McCo J.G., Lee E., Connolly N.P., Ward C.P., Strecker R.E. // Arch. Ital. Biol. 2012. V. 150. № 1. P. 5–14.
- Zhong Z., Yang L., Wu X., Huang W., Yan J., Liu S., Sun X., Liu K., Lin H., Kuang S., Tang X. // J. Mol. Neurosci. 2014. V. 53. № 3. P. 370–376.
- Bennett L., Kersaitis C., Macaulay S.L., Münch G., Niedermayer G., Nigro J., Payne M., Sheean P., Vallotton P., Zabarar D., Bird M. // PLoS One. 2013. V. 8. № 10. e76362.
- Semina I.I., Baichurina A.Z., Makarova E.A., Leushina A.V., Kazakevich Zh.V., Gabdrakhmanova M.R., Mukhamed'yarov M.A., Zefirov A.L. // Bull. Exp. Biol. Med. 2015. V. 158. № 5. P. 621–623.
- Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М. // Нейрохимия. 2013. Т. 30. № 2. С. 128–134.
- Brooks S.P., Pask T., Jones L., Dunnett S.B. // Genes Brain Behav. 2005. V. 4. № 5. P. 307–317.
- Neumeister K.L., Riepe M.W. // J. Alzheimers Dis. 2012. V. 30. № 2. P. 245–251.
- Nagakura A., Shitaka Y., Yarimizu J., Matsuoka N. // Eur. J. Pharmacol. 2013. V. 703. № 1–3. P. 53–61.
- Rutten K., Reneerkens O.A., Hamers H., Sik A., McGregor I.S., Prickaerts J., Blokland A. // J. Neurosci. Meth. 2008. V. 171. № 1. P. 72–77.
- Nimmrich V., Szabo R., Nyakas C., Granic I., Reymann K.G., Schröder U.H., Gross G., Schoemaker H., Wicke K., Möller A., Luiten P. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2008. V. 327. № 2. P. 343–352.
- Zhang R., Xue G., Wang S., Zhang L., Shi C., Xie X. // J. Alzheimers Dis. 2012. V. 31. № 2. P. 801–812.
- Harkany T., O'Mahony S., Kelly J.P., Soós K., Törő I., Penke B., Luiten P.G., Nyakas C., Gulya K., Leonard B.E. // Behav. Brain Res. 1998. V. 90. № 2. P. 133–145.
- Xu Z., Zheng H., Law S.L., Dong So D., Han Y., Xue H. // J. Pept. Sci. 2006. V. 12. № 1. P. 72–78.
- Feng Z., Chang Y., Cheng Y., Zhang B.L., Qu Z.W., Qin C., Zhang J.T. // J. Pineal. Res. 2004. V. 37. № 2. P. 129–136.
- Tucker K.R., Godbey S.J., Thiebaud N., Fadool D.A. // Physiol. Behav. 2012. V. 107. № 3. P. 3424–3432.
- Walker D.L., Davis M. // Pharmacol. Biochem. Behav. 2002. V. 71. № 3. P. 379–392.
- Zhong Z., Yang L., Wu X., Yuang W., Yan J., Liu S., Sun X., Liu K., Lin H., Kuang S., Tang X. // J. Mol. Neurosci. 2014. V. 53. № 3. P. 370–376.
- Zolotarev Yu.A., Kovalev G.I., Kost N.V., Voevodina M.E., Sokolov O.Y., Dadayan A.K., Kondrakhin E.A., Vasilev E.V., Bogachuk A.P., Azev V.N., et al. // J. Psychopharmacol. 2016. V. 30. № 9. P. 922–935.