

УДК 577.112.6:615.214.31

# Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 восстанавливает нарушенные когнитивные функции в крысиных моделях болезни Альцгеймера

П. Ю. Поварнина\*, О. Н. Воронцова, Т. А. Гудашева, Р. У. Островская, С. Б. Середенин  
НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8  
\*E-mail: povarnina@gmail.com  
Поступила в редакцию 12.01.2013

**РЕФЕРАТ** В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН синтезирован дипептидный миметик четвертой петли фактора роста нервов (NGF), гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинилглутамиллизина) (ГК-2). Этот миметик проявлял нейропротективную активность *in vitro* в наномолярных концентрациях, был эффективен *in vivo* в дозах 0.01–5 мг/кг при внутрибрюшинном (в/б) и 10 мг/кг при пероральном введении на моделях болезни Паркинсона, ишемического и геморрагического инсульта, глобальной ишемии головного мозга. В представленной работе изучены мнемотропные эффекты ГК-2 при субхроническом в/б введении в дозах 0.5 и 1 мг/кг на моделях болезни Альцгеймера (БА) у крыс. Установлено, что дипептид ГК-2 значительно препятствует нарушению негативного обучения (*habituation*), вызванному септо-гиппокампальной перерезкой. На стрептозотоциновой модели БА показано, что ГК-2 выражено противодействует дефициту пространственной памяти в водном лабиринте Морриса. Таким образом, ГК-2, оригинальный димерный дипептидный миметик NGF, проявляет активность на моделях БА при системном введении.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** низкомолекулярный миметик NGF, ГК-2, септо-гиппокампальная перерезка, стрептозотоциновая модель болезни Альцгеймера, негативное обучение (*habituation*), водный лабиринт Морриса.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** БА – болезнь Альцгеймера; NGF – фактор роста нервов (*nerve growth factor*); APP – белок-предшественник амилоида (*amyloid precursor protein*); в/б – внутрибрюшинно; ЛП – латентный период; ИОР – исследовательско-ориентировочная реакция.

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенная причина деменции. Предполагается, что к 2050 году число больных БА удвоится [1]. В настоящее время не существует фармакологических препаратов, обеспечивающих длительную нейропротекцию при БА и ограничивающих развитие когнитивных нарушений [2].

Вовлеченность фактора роста нервов (NGF) в патогенез БА хорошо известна. Прогрессирующее снижение когнитивных функций при БА связано с дегенерацией холинергических нейронов базальных отделов переднего мозга [3], которые в центральной нервной системе являются основной мишенью данного нейротрофина, обеспечивающего сохранение их биохимического и морфологического фенотипа, выживаемость в присутствии повреждающих факторов [4]. NGF тормозит формирование в головном

мозге амилоидных бляшек и нейрофибриллярных сплетений – основных патоморфологических признаков БА, путем ингибирования амилоидогенного процессинга APP [5] и гиперфосфорилирования тау-белка, образующего нейрофибриллярные клубки [6].

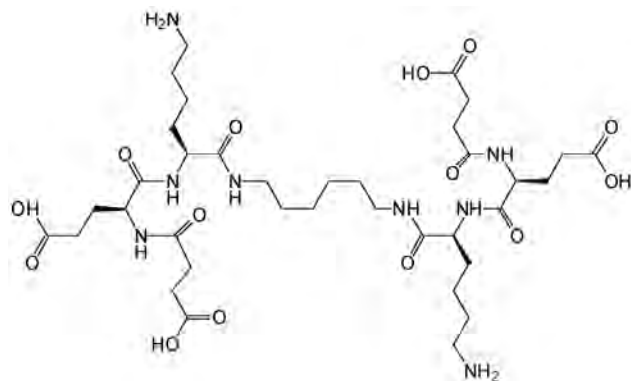
Точные причины возникновения sporadicческой БА до сих пор неизвестны, однако все больше подтверждений находит гипотеза об ухудшении трофической поддержки NGF холинергических нейронов базальных отделов переднего мозга как пусковом механизме заболевания [7, 8]. На трансгенных мышах линии AD11 (у этих мышей в постнатальном периоде вырабатываются антитела к NGF) было показано, что хроническая депривация NGF вызывает холинергический дефицит, потерю нейронов и синапсов, образование амилоидных бляшек и нейрофибриллярных сплетений, снижение си-

наптической пластичности и дефицит памяти [8]. Интраназальное введение NGF мышам линии AD11 препятствовало нарушению холинергической передачи, накоплению  $\beta$ -амилоида и гиперфосфорилированного тау-белка, развитию дефицита памяти [9].

На различных экспериментальных моделях БА, таких, как разрушение базальных ядер Мейнerta иботеновой кислотой, септо-гиппокампальная перерезка и естественное старение, было показано, что NGF при внутримозговом терапевтическом введении противодействует дегенерации холинергических нейронов, а также восстанавливает нарушенные когнитивные функции [10–12].

Неудовлетворительные фармакокинетические свойства, ограниченная способность проникать через гематоэнцефалический барьер и плеiotропность ограничивают применение нативного NGF в клинике. Поэтому в настоящее время ряд фармацевтических компаний и научных групп ведут разработку низкомолекулярных миметиков NGF [13–15].

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН на основе структуры  $\beta$ -изгиба четвертой петли NGF создан димерный дипептидный миметик ГК-2 (гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-глутамиллизина)) [16]. ГК-2, как и NGF, вызывает фосфорилирование специфических рецепторов TrkA и Akt-киназ, вовлеченных в реализацию нейропротективных эффектов, опосредуемых данными рецепторами [17]. В экспериментах *in vitro* ГК-2 в наномолярных концентрациях проявлял высокую NGF-подобную нейропротективную активность, не обладая, в отличие от нативного белка, дифференцирующей активностью [18]. ГК-2 предотвращал вызванную  $H_2O_2$  или глутаминовой кислотой гибель иммортилизованных нейронов гиппокампа мыши в культуре (линия HT-22), а также защищал клетки линии PC-12 феохромоцитомы крысы от действия нейротоксина МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин) [19]. В экспериментальных моделях острой и хронической ишемии головного мозга у крыс дипептид ГК-2 проявлял нейропротективные свойства и улучшал когнитивные функции [20–22], снижал выраженность поведенческих симптомов на ряде моделей паркинсонического синдрома [23]. Дипептид ГК-2 малотоксичен ( $LD_{50} = 714$  мг/кг при внутривенном введении беспородным мышам-самцам) и лишен основных побочных эффектов NGF. Он не снижает болевой порог (в дозах 0.5–2 мг/кг в/б в тесте «отдергивание хвоста» при термическом раздражении, температура воды 55°C) [24] и не вызывает потери веса при хроническом введении крысам (0.5 мг/кг, в/б) [25].



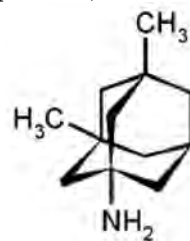
ГК-2

Цель данной работы состояла в изучении мнемоторных эффектов ГК-2 на моделях БА. Существуют два основных подхода к моделированию нарушений, характерных для БА, – хирургический и нейротоксический. В качестве первого подхода мы применяли перерезку септо-гиппокампального пути – хорошо изученную и широко используемую модель БА. Деафферентация гиппокампа вследствие септо-гиппокампальной перерезки приводит к развитию холинергического дефицита и связанного с ним нарушения когнитивных функций [26, 27]. На этой модели разные исследователи изучали эффекты NGF [28, 29], поэтому мы использовали ее для оценки активности миметика NGF ГК-2. В качестве нейротоксической модели применяли стрептозотоциновую модель БА, которая воспроизводит основные патологические процессы в головном мозге, включая накопление  $\beta$ -амилоида, гиперфосфорилированного тау-белка, а также нарушение пространственной памяти [30], характерное и для больных БА [31].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Вещества

Дипептид ГК-2 (гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-глутамиллизина), мол. масса 835 Да) синтезирован в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН [16]. Для наркоза применяли нембутал (Sigma, США). Мемантин (1-амино-3,5-диметиладамантана гидрохлорид, мол. масса 215 Да) получен в фирме Merck KGaA (Германия).



Мемантин

Нембутал вводили в виде взвеси в физрастворе, дипептид ГК-2 растворяли в дистиллированной воде, мемантин вводили в виде взвеси в дистиллированной воде. Все вещества (кроме стрептозотоцина) вводили в/б из расчета 2 мл/кг массы.

Дозы ГК-2 (0.5 и 1 мг/кг) были выбраны как наиболее эффективные *in vivo* на основании данных, полученных при изучении зависимости эффекта от дозы этого соединения на модели галоперидоловой каталепсии у крыс, используемой для скрининга соединений с потенциальной антипаркинсонической активностью [23]. Эффективность этих доз подтверждена также на различных моделях ишемии головного мозга [20–22].

### Животные

Эксперименты проводили на 32 самцах беспородных белых крыс и 24 самцах крыс линии Вистар, полученных из питомника «Столбовая» РАМН. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде и при естественной смене светового режима. Поведенческие эксперименты выполняли в зимний период в интервале 10.00–14.00 по местному времени. При работе с крысами соблюдали требования, сформулированные в Директивах Совета Европейского сообщества 86/609/ЕЕС об использовании животных для экспериментальных исследований.

### Изучение эффектов ГК-2 на модели БА с перерезкой септо-гиппокампального пути [26]

*Дизайн исследования.* Крысы линии Вистар массой 280–400 г были разделены случайным образом на три группы: ложнооперированные ( $n=6$ ); оперированные ( $n=10$ ); оперированные и получавшие дипептид ГК-2 ( $n=8$ ). Дипептид ГК-2 (1 мг/кг) вводили через 2 ч после операции, а затем каждые 48 ч (всего семь инъекций). Группам «ложная операция» и «операция» вводили вместо ГК-2 дистиллированную воду по той же схеме в эквивалентных объемах. Через 48 ч после последней инъекции ГК-2 (или дистиллированной воды) животных тестировали в установке «Открытое поле».

*Операция.* Наркотизированное нембуталом (60 мг/кг) и оскальпированное животное помещали в стереотаксис. В кости черепа делали косые надрезы шириной 1 мм: начальная точка надреза находилась на уровне брегмы ( $AP = 0.0$ ) и латеральнее ее на 2 мм ( $L = \pm 2.0$ ); конечная точка надреза находилась на 2 мм каудальнее брегмы и на 1 мм латеральнее ее ( $AP = -2.0$ ;  $L = \pm 1.0$ ). После пропила кости твердую мозговую оболочку надрезали в области пропилов. В надрез опускали стерильную загнутую иглу на глубину 6.2 мм от поверх-

ности кости ( $DV = +6.2$ ). С помощью одновременной работы двух винтов стереотаксиса иглу медленно перемещали почти до конечной точки косого разреза. Затем иглу медленно поднимали из надреза. Процедуру повторяли 2 раза на каждом полушарии. Процедура «ложной» операции была сходна с процедурой перерезки, за исключением того, что иглу опускали на глубину 3 мм от поверхности кости ( $DV = +3.0$ ).

*«Открытое поле».* Этот тест широко используется для оценки общей двигательной и исследовательской активности [32]. Установка представляла собой круглую арену из белого поливинилхлорида. Диаметр арены 90 см, высота стенок 40 см. Пол арены расчерчен на 19 квадратов примерно одинаковой площади. Животное аккуратно помещали на пол в центре арены и на протяжении 4 мин регистрировали число пересеченных им квадратов и вертикальных стоек. Регистрацию проводили с помощью программы RealTimer (НПК «Открытая наука», Россия). Известно, что при перерезке септо-гиппокампального пути у крыс нарушается угасание исследовательско-ориентировочной реакции (ИОР) в тесте «Открытое поле» [33, 34]. Коэффициент угасания ИОР, отражающий способность крыс к негативному обучению (*habituation*), рассчитывали по формуле:  $K_y = a/b$ , где  $a$  – число пересеченных квадратов в группе в первую минуту наблюдения, а  $b$  – число пересеченных квадратов в группе в последнюю минуту наблюдения.

### Изучение эффектов ГК-2 на модели БА с введением стрептозотоцина в желудочки головного мозга [30]

*Дизайн исследования.* Беспородных самцов крыс массой 330–380 г разделяли случайным образом на четыре группы: ложнооперированные ( $n=6$ ); оперированные ( $n=9$ ); оперированные и получавшие дипептид ГК-2 ( $n=7$ ); оперированные и получавшие препарат сравнения мемантин ( $n=6$ ). Дипептид ГК-2 (0.5 мг/кг или  $6 \times 10^{-7}$  моль/кг) вводили через 4 ч после операции, а затем 1 раз в сутки в течение 2 нед. (всего 14 инъекций). Мемантин вводили по той же схеме в дозе 10 мг/кг ( $4.6 \times 10^{-5}$  моль/кг). Эта доза была выбрана как наиболее эффективная согласно литературным данным [35]. Группам «ложная операция» и «операция» вместо ГК-2 или мемантина вводили дистиллированную воду по той же схеме в эквивалентных объемах. Через 3 нед. после операции крыс в течение 5 дней обучали нахождению затопленной платформы в установке «Водный лабиринт Морриса», а через 1 нед. после окончания обучения тестировали на сохранение навыка.

**Операция.** Крысу под нембуталовым наркозом (60 мг/кг) помещали в стереотаксис и вводили ей билатерально в желудочки мозга стрептозотоцин в растворе Рингера (5 мкл в каждый желудочек) в дозе 3 мг/кг, по координатам  $AP = -1$ ;  $L = \pm 1.5$ ;  $DV = +3.5$ . Ложнооперированным животным в желудочки мозга вводили по 5 мкл раствора Рингера. Введение осуществляли со скоростью 1 мкл/мин, при этом после каждого микролитра делали паузы (1 мин), по окончании введения иглу оставляли на месте в течение еще 3 мин, а затем вынимали.

**Водный лабиринт Морриса.** Этот тест, предложенный впервые Р. Моррисом [36], применяется в основном для оценки пространственной памяти. Экспериментальная установка представляла собой бассейн из серого пластика (диаметр 150 см, высота 60 см). Бассейн наполняли водой (24–25°C) на 40 см. Бассейн был условно разделен на четыре сектора, в центре одного из которых располагалась платформа диаметром 10 см, на 2 см покрытая водой. Различные визуальные стимулы были размещены на стенах комнаты напротив каждого из условных секторов. Обучение навыку нахождения затопленной платформы осуществляли в течение 5 дней. В этот период ежедневно животных 4 раза помещали в воду из четырех разных стартовых точек у стенки бассейна (стартовые точки располагались в центре условных секторов). Последовательность стартовых точек была одинаковой для всех животных в течение дня и менялась каждый день. Интервал между посадками – 30 с. После достижения крысой платформы ее оставляли на ней в течение 5 с. Если животное в течение 60 с не находило затопленную платформу, его мягко направляли к ней. Через 1 нед. проводили тест на сохранение приобретенного навыка нахождения платформы. Для этого животных снова 4 раза помещали в воду из четырех разных стартовых точек. В каждой пробе регистрировали латентный период (ЛП) достижения затопленной платформы.

**Статистический анализ.** Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. В качестве критерия способности к пространственному обучению в установке «Водный лабиринт Морриса» использовали снижение среднего за день ЛП достижения платформы на протяжении периода обучения. В качестве критерия сохранности и эффективности воспроизведения полученного навыка использовали средний ЛП достижения платформы в день теста, а также ЛП достижения платформы в последнюю, четвертую тестовую посадку. Для анализа межгрупповых различий в установке «Водный лабиринт Морриса» использовали одно-

вариантный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с дальнейшим методом множественных сравнений по Фишеру. Для парных сравнений связанных выборок применяли критерий Вилкоксона. Данные представляли в виде медиан выборок, нижнего и верхнего квартилей. Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

Терапевтический эффект ( $T_s$ ) дипептида ГК-2 рассчитывали по формуле:

$$T_s = [(c-d)/(e-d)] \times 100\%,$$

где  $c$  – значение параметра в группе «операция + лечение»,  $d$  – значение параметра в группе «операция»,  $e$  – значение параметра в группе «ложная операция».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Дипептид ГК-2 противодействует вызванному перерезкой септо-гиппокампального пути нарушению когнитивных функций у крыс

Статистически значимых межгрупповых различий в интенсивности горизонтальной и вертикальной двигательной активности выявлено не было. Анализ динамики горизонтальной двигательной активности (число пересеченных квадратов) показал, что у ложнооперированных животных этот параметр выражено снижался и в 4-ю мин теста был значимо ниже, чем в первую ( $K_y = 2.3$ ). Для грызунов характерно постепенное угасание ИОР при попадании в новую обстановку, оно обусловлено привыканием или негативным обучением. Перерезка септо-гиппокампального пути приводила к нарушению угасания ИОР с течением времени, что выражалось в почти неизменном уровне горизонтальной двигательной активности у оперированных крыс на протяжении всего времени тестирования ( $K_y = 1$ ). Аналогичные результаты на данной модели получены и другими исследователями [33, 34]. Нарушение угасания ИОР в новой обстановке, вызванное септо-гиппокампальной перерезкой, вероятно, связано с нарушением пространственной памяти [33]. У оперированных животных, получавших ГК-2, наблюдалось восстановление способности к негативному обучению ( $K_y = 1.9$ ) (табл. 1). Терапевтический эффект ГК-2 составлял около 70%.

### Дипептид ГК-2 полностью восстанавливает нарушение пространственной памяти, вызванное введением стрептозотоцина в желудочки мозга крыс

Известно, что внутримозговое введение стрептозотоцина приводит к развитию когнитивного дефицита, который может быть зарегистрирован через 2 нед.



Таблица 1. Влияние ГК-2 на нарушение угасания ИОР в тесте «Открытое поле», вызванное перерезкой септо-гиппокампального пути

Группа	1-я мин	2-я мин	3-я мин	4-я мин	Коэффициент угасания
Ложная операция	21(15–32)	14(11–25)	9.5(7–16)*	9(8–13)*	2.3
Операция	11.5(8–35)	12(9–32)	19(11–24)	11.5(9–29)	1
Операция + ГК-2	12.5(9–21)	11.5(7–14)	15.5(8–17)	6.5(3–8)*	1.9

\* $p < 0.05$  по сравнению с двигательной активностью в той же группе в первую минуту теста.

Примечание. Данные представлены в виде медиан соответствующих выборок. Коэффициент угасания ( $K_y$ ) ИОР, отражающий способность крыс к негативному обучению, рассчитывали по формуле  $K_y = a/b$ , где  $a$  – число пересеченных квадратов в группе в первую минуту наблюдения,  $b$  – число пересеченных квадратов в группе в последнюю минуту наблюдения.

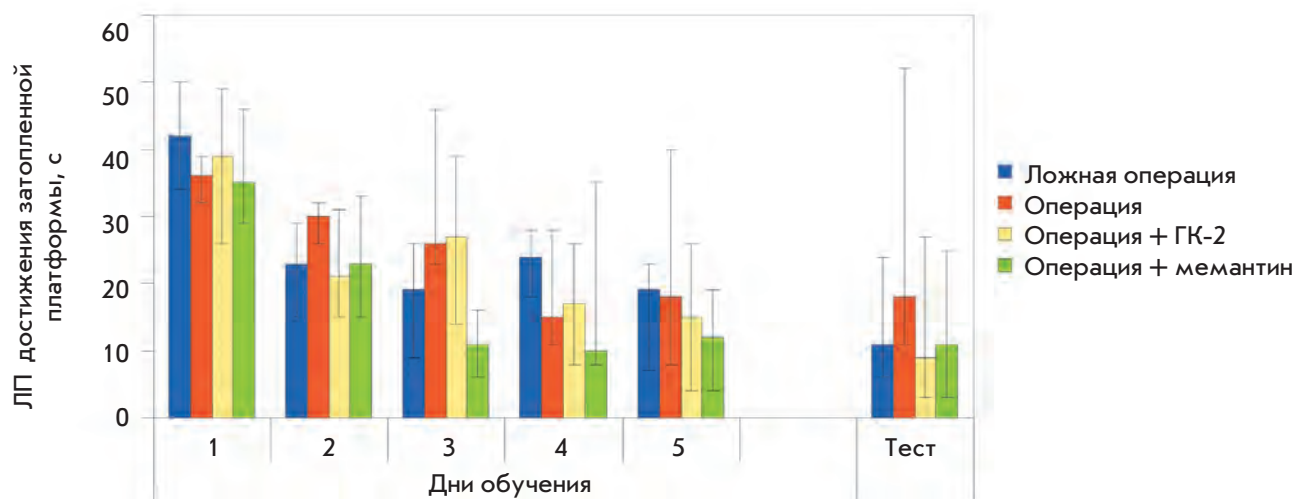


Рис. 1. Пространственное обучение и тест на сохранение навыка в водном лабиринте Морриса. Ложная операция – двустороннее введение раствора Рингера в желудочки мозга крысам плюс субхроническое внутрибрюшинное введение дистиллированной воды.

Операция – двустороннее введение стрептозотоцина, разведенного в растворе Рингера, в желудочки мозга крысам плюс субхроническое внутрибрюшинное введение дистиллированной воды.

Операция + ГК-2 – двустороннее введение стрептозотоцина, разведенного в растворе Рингера, в желудочки мозга крысам плюс субхроническое внутрибрюшинное введение дипептида ГК-2.

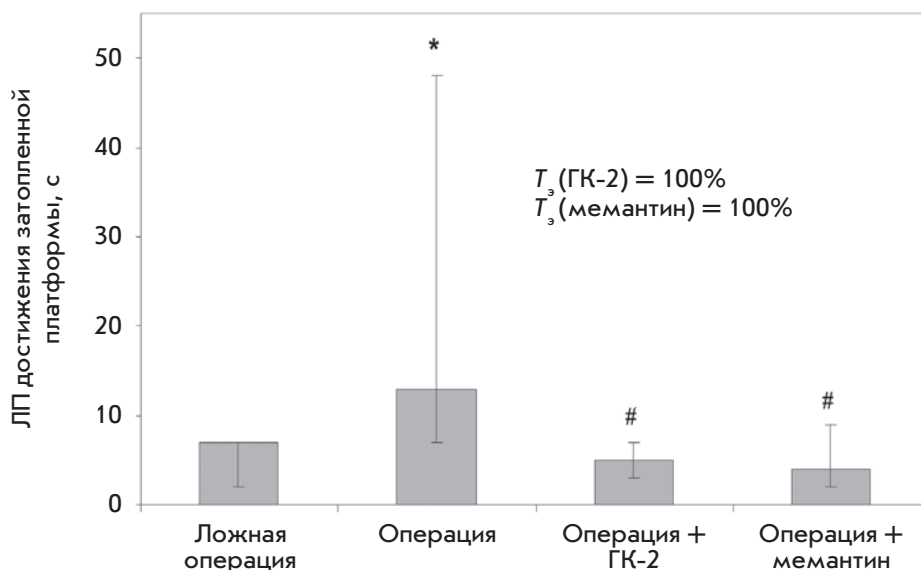
Операция + мемантин – двустороннее введение стрептозотоцина, разведенного в растворе Рингера, в желудочки мозга крысам плюс субхроническое внутрибрюшинное введение мемантина.

Для каждого животного усреднялись ЛП за четыре посадки в течение 1 дня. Данные представлены в виде медиан и интерквартильных разбросов

после операции и прогрессирует на протяжении месяцев [30]. В частности, внутримозговое введение стрептозотоцина приводит к нарушению пространственной памяти в водном лабиринте Морриса. Данное нарушение коррелирует с биохимическими изменениями в гиппокампе – снижением активности ацетилхолинтрансферазы [30], а также со значительным снижением иммунореактивности транскрипци-

онного фактора CREB, который играет важную роль в регуляции процессов обучения и памяти, участвуя в трансформации кратковременной памяти в долговременную [37].

В нашей работе ЛП достижения платформы снижался во всех группах в процессе обучения; статистически значимых внутригрупповых различий в данный период не выявлено (рис. 1). Таким образом,



**Рис. 2.** Влияние ГК-2 на сохранение навыка нахождения затопленной платформы в установке «Водный лабиринт Морриса», нарушенное у крыс с экспериментальной БА, индуцированной введением стрептозотоцина в желудочки мозга. Данные представлены в виде медиан и интерквартильных разбросов. \* –  $p = 0.017$  по сравнению с группой «ложная операция»; # –  $p = 0.012$  («операция + ГК-2») и  $0.014$  («операция + мемантин») по сравнению с группой «операция» (одновариантный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с дальнейшим *post hoc*-анализом по Фишеру). Терапевтический эффект ( $T_3$ ) дипептида ГК-2 рассчитывали по формуле:  $T_3 = [(c-d)/(e-d)] \times 100\%$ , где  $c$  – ЛП достижения платформы в группе «операция + лечение»,  $d$  – ЛП достижения платформы в группе «операция»,  $e$  – ЛП достижения платформы в группе «ложная операция»

введение стрептозотоцина не влияло на способность животных к обучению в водном лабиринте Морриса. Это может быть связано как с тем, что обучение мы проводили через 3 нед. после операции (вероятно, в этот период когнитивный дефицит еще не был достаточно выражен), так и с использованием беспородных крыс. В исследовании, проведенном Shingo и соавт. [37], внутримозговое введение стрептозотоцина также не влияло на способность крыс линии Вистар к обучению в водном лабиринте Морриса через 2 нед. после операции.

Тест на сохранение приобретенного навыка, проведенный через 1 нед. после окончания обучения, показал, что у ложнооперированных крыс средний (по четырем посадкам) ЛП достижения платформы имел тенденцию к снижению по сравнению с последним днем обучения, что согласуется с данными о повышении уровня воспроизведения долговременной пространственной памяти в отставленные сроки после обучения [38]. В то же время у оперированных крыс ЛП достижения платформы не снижался по сравнению с последним днем обучения и был выше, чем в группе «ложная операция», хотя эти результаты и были статистически недостоверными. У получавших ГК-2 животных ЛП достижения платформы не отличался от группы «ложная операция» (рис. 1).

**Таблица 2.** Влияние ГК-2 на ЛП нахождения затопленной платформы в водном лабиринте Морриса у крыс с экспериментальной БА, индуцированной введением стрептозотоцина в желудочки мозга

Группа	ЛП достижения затопленной платформы*
Ложная операция	7 (3-7)
Операция	13 (7-48)
Операция + ГК-2	5 (4-6.5)
Операция + мемантин	4 (2-8)

\*Данные представлены в виде медиан, в скобках – интерквартильные разбросы.

Анализ межгрупповых различий по ЛП достижения затопленной платформы в последнюю, четвертую, тестовую посадку показал, что у оперированных крыс этот параметр был значимо выше, чем в группе «ложная операция» (рис. 2, табл. 2). Миметик NGF ГК-2 полностью предотвращал данное нарушение, не уступая по эффективности препарату сравнения мемантину (рис. 2).

Таким образом, дипептид ГК-2 противодействовал когнитивному дефициту на крысиных моделях БА.

Ранее установлено, что ГК-2 обладает нейропротективной активностью и действует по NGF-подобному механизму [18]. Известно, что NGF при внутримозговом введении восстанавливает когнитивные функции на *in vivo*-моделях БА. Так, введение на протяжении 14 дней мышинового NGF в желудочки головного мозга крыс, подвергнутых септо-гиппокампальной перерезке, приводило к значительному улучшению пространственной памяти в водном лабиринте Морриса с терапевтическим эффектом около 75% [28]. Описано восстановление холинергических нейронов под влиянием экзогенного NGF через 1 мес. после перерезки *fimbria-fornix* у крыс [29]. Улучшение пространственной памяти у крыс, получавших NGF, через 2 нед. после операции может быть связано с повышением выживаемости холинергических нейронов и/или улучшением холинергической передачи в гиппокампе [28]. Внутримозговое введение крысам рекомбинантного человеческого NGF на протяжении 3 нед. после разрушения базальных ядер Мейнерта иботеновой кислотой частично предотвращало нарушение способности к обучению в водном лабиринте Морриса с терапевтическим эффектом около 25% [39]. При этом введение рекомбинантного человеческого NGF приводило к снижению массы тела крыс. Помимо потери веса, известны такие побочные эффекты NGF, как болевой синдром [40, 41], гиперплазия Шванновских клеток и множественное прораствание сенсорных и симпатических нейритов в продолговатом и спинном мозге [42].

Описаны низкомолекулярные миметики NGF, активные на моделях БА. Непептидный миметик NGF, селективный агонист TrkA-рецепторов, названный D3, при внутримозговом введении (40 мкг на крысу)

восстанавливал холинергический дефицит и улучшал пространственную память у старых животных в водном лабиринте Морриса [43].

Другой низкомолекулярный непептидный миметик NGF MT2, также являющийся агонистом TrkA-рецепторов, проявлял нейропротективную и антиамилоидогенную активность на клеточной модели БА в концентрации 5–30 мкмоль/мл [44].

Данных о системном использовании как самого NGF, так и его низкомолекулярных миметиков, активирующих TrkA-рецепторы, в моделях БА нами не обнаружено. Известно лишь о непептидном агонисте p-75 рецепторов LM11A-31, который проявил нейропротективную и антиамнестическую активность на генетической мышинной модели БА [45].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в нашем исследовании впервые получены данные о мнемотропных эффектах дипептидного миметика NGF, вызывающего фосфорилирование TrkA-рецепторов и Akt-киназа, при его системном введении в моделях БА.

Дипептид ГК-2 значительно препятствует нарушению негативного обучения (*habituation*), вызванному септо-гиппокампальной перерезкой. Аналогично мемантину, широко используемому в клинике БА, ГК-2 выражено противодействует дефициту пространственной памяти в водном лабиринте Морриса на стрептозотоциновой модели БА. При этом весовая активная доза ГК-2 в 20 раз, а молярная – примерно в 80 раз ниже, чем у мемантина.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки ГК-2 в качестве нейропротективного препарата, потенциально способного препятствовать развитию БА. ●

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ubhi K., Masliah E. // *J. Alzheimers Dis.* 2013. V. 33. Suppl.1. P. 185–194.
2. Dunkel P., Chai C.L., Sperlagh B., Huleatt P.B., Matyus P. // *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2012. V. 21. № 9. P. 1267–1308.
3. Gelfo F., Tirassa P., De Bartolo P., Caltagirone C., Petrosini L., Angelucci F. // *J. Alzheimers Dis.* 2011. V. 25. № 9. P. 213–217.
4. Sofroniew M.V., Howe C.L., Mobley W.C. // *Annu. Rev. Neurosci.* 2001. № 24. P. 1217–1281.
5. Calissano P., Amadoro G., Matrone C., Ciafre S., Marolda R., Corsetti V., Ciotti M.T., Mercanti D., Di Luzio A., Seerini C. // *Cell Death Differ.* 2010. № 17. P. 1126–1133.
6. Calissano P., Matrone C., Amadoro G. // *Dev. Neurobiol.* 2010. V. 70. № 5. P. 372–382.
7. Cuello A.C., Bruno M.A. // *Neurochem. Res.* 2007. V. 32. № 6. P. 1041–1045.
8. Cattaneo A., Capsoni S., Paoletti F. // *J. Alzheimers Dis.* 2008. V. 15. № 2. P. 255–283.
9. Covaceuszach S., Capsoni S., Ugolini G., Spirito F., Vignone D., Cattaneo A. // *Curr. Alzheimer Res.* 2009. V. 6. № 2. P. 158–170.
10. Winkler J., Thal L.J. // *Exp. Neurol.* 1995. V. 136. № 2. P. 234–250.
11. Gu H., Long D., Song C., Li X. // *Neurosci. Lett.* 2009. V. 453. № 3. P. 204–209.
12. Smith D.E., Roberts J., Gage F.H., Tuszynski M.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. № 19. P. 10893–10898.
13. Colangelo A.M., Bianco M.R., Vitagliano L., Cavaliere C., Cirillo G., De Gioia L., Diana D., Colombo D., Redaelli C., Zaccaro L., et al. // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. № 11. P. 2698–2709.
14. Maliartchouk S., Feng Y., Ivanisevic L., Debeir T., Cuello A.C., Burgess K., Saragovi H.U. // *Mol. Pharmacol.* 2000. V. 57. № 2. P. 385–391.
15. Longo F.M., Xie Y., Massa S.M. // *Curr. Med. Chem.* 2005. V. 5. № 1. P. 29.
16. Середин С.Б., Гудашева Т.А. // Патент РФ. 2010. № 2410392.

17. Gudasheva T.A., Antipova T.A., Seredenin S.B. // XXII Intern. Symp. on Medicinal Chemistry. Book of Abstracts. Berlin: Chemmedchem. ISMC, 2012. P. 299.
18. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Середин С.Б. // ДАН. 2010. Т. 434. № 4. С. 549–552.
19. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середин С.Б. // Бюл. эксп. биол. 2010. Т. 150. № 11. С. 537–540.
20. Середин С.Б., Силачев Д.Н., Гудашева Т.А., Пирогов Ю.А., Исаев Н.К. // Бюл. эксп. биол. 2011. Т. 151. № 5. С. 518–521.
21. Середин С.Б., Романова Г.А., Гудашева Т.А., Шакова Ф.М., Барсков И.В., Стельмашук Е.В., Антипова Т.А. // Бюл. эксп. биол. 2010. Т. 150. № 10. С. 406–409.
22. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., Николаев С.В., Антипова Т.А., Островская Р.У., Середин С.Б. // Эксп. клин. фарм. 2012. Т. 75. № 9. С. 15–20.
23. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., Бондаренко Н.А., Середин С.Б. // Бюл. эксп. биол. 2011. Т. 151. № 6. С. 634–638.
24. Константинопольский М.А., Чернякова И.В., Колик Л.Г., Гудашева Т.А. // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». М.: Изд-во Фолиум, 2012. С. 94.
25. Поварнина П.Ю., Озерова И.В., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середин С.Б. // ДАН. 2013. Т. 449. № 3. С. 364–366.
26. Krugel U., Bigl V., Eschrich K., Bigl M. // Int. J. Dev. Neurosci. 2001. V. 19. № 3. P. 263–277.
27. Lopez-Coviella I., Mellott T.J., Schnitzler A.C., Blusztajn J.K. // PLoS One. 2011. V. 6. № 6. e21166
28. Francis-Turner L., Valousková V. // Neurosci. Lett. 1996. V. 202. № 3. P. 193–196.
29. Miyamoto O., Itano T., Fujisawa M., Tokuda M., Matsui H., Nagao S., Hatase O. // Acta Med. Okayama. 1993. V. 47. № 3. P. 139–144.
30. Salkovic-Petrisic M., Hoyer S. // J. Neural. Transm. Suppl. 2007. № 72. P. 217–233.
31. Kovacs T., Carris N.J., Lantos P.L. // Neurorept. 2001. № 12. P. 285–288.
32. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.
33. Lamprea M.R., Cardenas F.P., Silveira R., Walsh T.J., Morato S. // Braz. J. Med. Biol. Res. 2003. V. 36. № 2. P. 233–238.
34. Cassel J.C., Kelche C., Peterson G.M., Ballough G.P., Goepf I., Will B. // Neuroscience. 1991. V. 45. № 3. P. 571–586.
35. Filali M., Lalonde R., Rivest S. // Neuropharmacology. 2011. V. 60. № 6. P. 930–936.
36. Morris R. // J. Neurosci. Meth. 1984. V. 11. № 1. P. 47–60.
37. Shingo A.S., Kanabayashi T., Murase T., Kito S. // Behavioural Brain Res. 2012. № 229. P. 378–383.
38. Солнцева С.В., Сторожева З.И., Никитин В.П. // Бюл. эксп. биол. 2012. Т. 153. № 5. С. 565–568.
39. Winkler J., Thail L.J. // Exp. Neurol. 1995. V. 136. № 2. P. 234–250.
40. Eriksdotter Jönhagen M., Nordberg A., Amberla K., Bäckman L., Ebendal T., Meyerson B., Olson L., Seiger, Shigeta M., Theodorsson E., et al. // Dement. Geriatr. Cogn. Disord. 1998. V. 9. № 5. P. 246–257.
41. Apfel S.C., Schwartz S., Adornato B.T., Freeman R., Biton V., Rendell M., Vinik A., Giuliani M., Stevens J.C., Barbano R., et al. // JAMA. 2000. V. 284. № 17. P. 2215–2221.
42. Winkler J., Ramirez G.A., Kuhn H.G., Peterson D.A., Day-Lollini P.A., Stewart G.R., Tuszynski M.H., Gage F.H., Thal L.J. // Ann. Neurol. 1997. V. 41. № 1. P. 82–93.
43. Bruno M.A., Clarke P.B., Seltzer A., Quirion R., Burgess K., Cuello A.C., Saragovi H.U. // J. Neurosci. 2004. V. 24. № 37. P. 8009–8018.
44. Scarpi D., Cirelli D., Matrone C., Castronovo G., Rosini P., Occhiato E.G., Romano F., Bartali L., Clemente A.M., Bottegoni G., et al. // Cell Death Dis. 2012. V. 3. № 7. P. 339.
45. Knowles J.K., Simmons D.A., Nguyen T.V., Vander Griend L., Xie Y., Zhang H., Yang T., Pollak J., Chang T., Arancio O., et al. // Neurobiol. Aging. 2013. V. 34. № 8. P. 2052–2063.