

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В. ЛОМОНОСОВА  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

*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

Диссертация

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор Каменский Андрей Александрович
--

кандидат биологических наук  
Аббасова Кенул Расим кызы

Москва – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	7
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	15
1.1. БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА .....	15
1.2. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА И ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ДЛЯ ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА .....	26
1.3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА .....	36
1.4. ФОКАЛЬНЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ .....	50
1.5. ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ .....	54
1.6. МОЗГОВОЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР .....	62
1.7. НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИМЕТИКИ НЕЙРОТРОФИНОВ .....	66
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	79
3. РЕЗУЛЬТАТЫ .....	90
3.1. Изучение мнемотропной активности миметиков NGF и BDNF при однократном введении в тесте распознавания нового объекта .....	90
3.2. Изучение зависимости мнемотропного эффекта ГК-2 и ГСБ-214 от дозы в тесте распознавания нового объекта .....	94
3.3. Изучение мнемотропного эффекта ГСБ-214 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта с использованием блокатора Trk- рецепторов K252A .....	98
3.4. Изучение эффектов миметика ГК-2 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера .....	100
3.5. Изучение эффектов миметика ГСБ-214 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера .....	103

3.6. Изучение эффектов миметика ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели болезни Альцгеймера .....	104
3.7. Острые эффекты миметиков NGF и BDNF на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды CA1 .....	107
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	113
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	131
ВЫВОДЫ .....	134
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	134

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- 7,8-DHF – 7,8-дигидроксифлавонон
- AAV – аденоассоциированный вирус
- Akt – серин-треониновая протеинкиназа (threonine-protein kinase)
- APH1 –  $\gamma$ -секретазная субъединица 1
- APP – белок-предшественника амилоида
- A $\beta$  –  $\beta$ -амилоид
- BACE1 –  $\beta$ -секретаза
- BDNF – нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor)
- ССС – катион-хлорный котранспортер
- CTF83 – мембраносвязанный С-концевой фрагмента 83
- CTF99 – мембраносвязанный С-концевой фрагмент 99
- Erk – внеклеточная сигнал регулируемая киназа (extracellular signal-regulated kinase)
- FDA – Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration)
- GLP-1 – глюкагоноподобный пептид-1
- GSK-3 $\beta$  – киназагликогенсинтаза-3 $\beta$
- HFS – высокочастотная стимуляция
- HNE – 4-гидрокси-2,3-ноненаль
- IL – интерлейкин
- IRF3 – регуляторный фактор интерферона 3 (interferon regulatory factor 3)
- IRS-1 – субстрат инсулинового рецептора 1
- JNK – c-Jun N-концевая киназа (c-Jun-N-terminal kinase)
- LTP – долговременная потенция (long-term potentiation)
- MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа (mitogen-activated protein kinase)
- MDA – малоновый диальдегид
- mTOR – мишень рапамицина млекопитающих
- MARK4 – киназа, регулирующая средство к микротрубочкам 4

- mGluR5 – метаботропный глутаматный рецептор 5
- N<sub>2</sub>O – оксид азота
- NCSTN – никастрин
- NF-κB – ядерный фактор «каппа-би» (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)
- NGF – фактор роста нервов (nerve growth factor)
- NLGN1 – нейроглин 1
- NMDA – N-метил-D-аспарагиновая кислота
- PEN-2 – пресенилиновый энхансер 2
- PHF – парные спиральные филаменты (paired helical filaments,)
- PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа (phosphatidylinositol-3-kinase)
- PKA – протеинкиназа А
- PKC – протеинкиназа С
- PLC-γ1 – фосфолипаза С- γ1
- PPAR – рецептор, активируемый пероксисомным пролифератором (peroxisome proliferator-activated receptor)
- PPR – paired-pulse ratio
- SC – скополамин
- STZ – стрептозотоцин
- TBS – стимуляция тета вспышками (theta burst stimulation)
- TNF-α – фактор некроза опухолей альфа (tumor necrosis factor alpha)
- TrkA – тирозинкиназные рецепторы типа А (tropomyosin-related kinase A)
- α7nAChR – α7-никотиновый ацетилхолиновый рецептор
- АроЕ – аполипротеин Е
- АФК – активные формы кислорода
- АХЭ – ацетилхолинэстераза
- АЦХ – ацетилхолин
- БА – болезнь Альцгеймера
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ИАХЭ – ингибиторы АХЭ

ИФР-1, -2 – инсулиноподобный фактор роста -1 и -2

КД – коэффициент дискриминации

КПГ, AGE – конечные продукты гликирования

КШ – коллатерали Шаффера

МАО – моноаминоксидаза

МФТП – 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин

НО-1 – гемоксигеназа 1

НФК, NFT – нейрофибрилярные клубки

p75<sup>NTR</sup> – 75kDa pan neurotrophin receptor

СД2 – сахарный диабет 2 типа

ХАТ – холин-ацетилтрансфераза

ЭПР – ретикулум

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

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

большого 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  $\beta$ -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  $\beta$ -амилоидной токсичности как *in vitro*, так и *in vivo* (Arancibia et al., 2008). На трансгенных мышах 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 (Kores et al., 2020; Mufson et al., 2019). Недостатком генной терапии является ее инвазивность, высокая стоимость, а также вероятность развития побочных эффектов, обусловленных плеiotропностью 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  $\beta$ -амилоида (Aboukassim et al., 2011). Активным также оказался низкомолекулярный миметик BDNF, агонист TrkB рецепторов 7,8-дигидроксифлавонон (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.

### **Степень проработанности проблемы**

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- $\gamma$ 1. Показано, что ГК-2 и ГСБ-214 активируют PI3K/AKT и PLC- $\gamma$ 1, ГТС-201 – MAPK/ERK и PLC- $\gamma$ 1. ГК-6 и ГСБ-106 активируют все три сигнальных каскада - PI3K/AKT, MAPK/ERK и PLC- $\gamma$ 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).

### **Цель исследования**

Сравнительное изучение мнемотропной активности низкомолекулярных миметиков нейротрофинов NGF и BDNF в норме и в моделях болезни Альцгеймера.

### Задачи исследования

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/AKT и PLC $\gamma$  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- $\gamma$  пострецепторные сигнальные пути без влияния на MAPK, улучшают долговременную память без влияния на возбудимость нейронов в системе коллатерали Шаффера – пирамиды поля CA1 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 11 научных работ, в том числе 4 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.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Деменция — это широкая категория нейродегенеративных патологий, основным симптомом которой является снижение когнитивных способностей, достаточно значительное, чтобы повлиять на повседневную деятельность. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее частая причина деменции, на которую приходится от 60 до 80 % случаев. По состоянию на 2022 год число людей с деменцией, вызванной БА, составляет 5,8 млн человек, и ожидается, что в 2050 году оно вырастет до 13,8 млн (Alzheimer's Association, 2019).

БА носит прогрессирующий характер. Как правило, заболевание поражает пожилых людей, однако 5-10% приходится на так называемую БА с ранним началом (больные моложе 65 лет) (Reitz et al., 2020). С клинической точки зрения БА подразделяют на четыре стадии: предеменция, ранняя деменция, умеренная деменция, тяжелая деменция. Эта классификация основана на снижении когнитивных функций, начиная с малозаметных проблем на начальной стадии и заканчивая полной утратой самостоятельности больным на последней (Котов и др., 2015).

Серьезные экономические и социальные последствия, а также рост числа больных, связанный с увеличением продолжительности жизни, привели к увеличению исследовательской активности в области разработки новых высокоэффективных терапевтических средств. В 2021 году на стадии клинических испытаний в США находились 126 препаратов для лечения БА (Cummings et al., 2021). Однако на настоящий момент отсутствуют внедренные в клиническую практику фармакологические средства, которые бы останавливали или замедляли повреждение и гибель нейронов при БА, что может быть связано с недостатком знаний о молекулярно-биологических событиях, лежащих в основе заболевания (Alzheimer's Association, 2019).

Основные патофизиологические признаки болезни Альцгеймера – дегенерация холинергических нейронов головного мозга, формирование

внеклеточных бляшек, состоящих из агрегированного  $\beta$ -амилоида (A $\beta$ ) и внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, состоящих из гиперфосфорилированного тау-белка (Baiardi et al., 2018; Montine et al., 2012; Weller et al., 2018). Первые поражения мозга начинаются предположительно за 10–15 лет до появления когнитивных симптомов (O'Brien et al., 2011).

Болезнь Альцгеймера разделяют на спорадическую и генетическую форму, причем последняя составляет до 1-5% от общего числа случаев (Canter et al., 2016; Liu et al., 2019b).

Генетическая форма БА (также называемая болезнью Альцгеймера с ранним началом) строго ассоциирована с тремя генами – *APP*, *PSEN1* и *PSEN2*, кодирующими предшественник  $\beta$ -амилоида, белки пресенилин-1 и пресенилин-2, соответственно (Casace et al., 2016; Grigorenko et al., 2007). Мутации в этих генах обладают высокой пенетрантностью, однако встречаются редко, так в когорте пациентов с ранним началом БА частота составила <1% для *APP*, 6% для *PSEN1* и 1% для *PSEN2*, вместе составляя около 5% случаев этой формы БА (Brouwers et al., 2008). Мутации в этих генах приводят к увеличению продукции пептида A $\beta$ <sub>1-42</sub>, связанной с изменением активности  $\gamma$ -секретазы (Giau et al., 2019). Для спорадической формы БА, называемой еще БА с поздним началом, основным генетическим фактором риска является фенотип гена *APOE*, кодирующего аполипопротеин E (ApoE) (Podleśny-Drabiniok et al., 2020; Rogaeв, 1999). Благодаря геномному анализу были выявлены еще три гена: *TREM2*, *SORL1* и *ABCA7* (Bellenguez et al., 2017). *TREM2* кодирует триггерный рецептор миелоидных клеток (Gratuze et al., 2018). *SORL1* — белок SorLA, участвующий в процессинге белка-предшественника бета-амилоида (APP) и секреции пептида A $\beta$  (Campion et al., 2019). Белок ABCA7 предположительно регулирует метаболизм липидов (Roeck De et al., 2019).

Болезнь Альцгеймера представляет собой комплексное заболевание, включающее множество факторов. На основании основных симптомов, обнаруженных при post mortem анализе головного мозга пациентов – потеря синапсов, накопление аномальных нейритных бляшек и наличие



нейрофибрилярных клубков – было выдвинуто множество гипотез развития БА (Calabrò et al., 2021; Du et al., 2018a).

### 1.1.1. $\beta$ -Амилоид

Гипотеза, выдвинутая учеными в 1991 году (Hardy et al., 1991; Selkoe, 1991; Selkoe et al., 2016), предполагает, что накопление  $A\beta$  является исходным событием для БА.

Белок-предшественник амилоида (APP) представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, он экспрессируется в широком спектре клеток, включая ненейронные клетки. Существует три основные изоформы APP, содержащие 695, 751 или 770 аминокислот соответственно. APP предположительно вовлечен в синаптогенез и рост нейритов (Zheng et al., 2006). Полноразмерный белок расщепляется тремя протеиназами:  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазами. В неамилоидогенных путях APP расщепляется  $\alpha$ - и  $\gamma$ -секретазами (рис. 1). Сначала  $\alpha$ -секретаза, представляющая собой металлопротеазу семейства ADAM, расщепляет APP по остатку L688, что приводит к образованию растворимого sAPP $\alpha$  и мембраносвязанного C-концевого фрагмента 83 (CTF83). CTF83 в свою очередь расщепляется  $\gamma$ -секретазой с образованием внутриклеточного домена AICD и небольшого фрагмента p3 (Uddin et al., 2020).

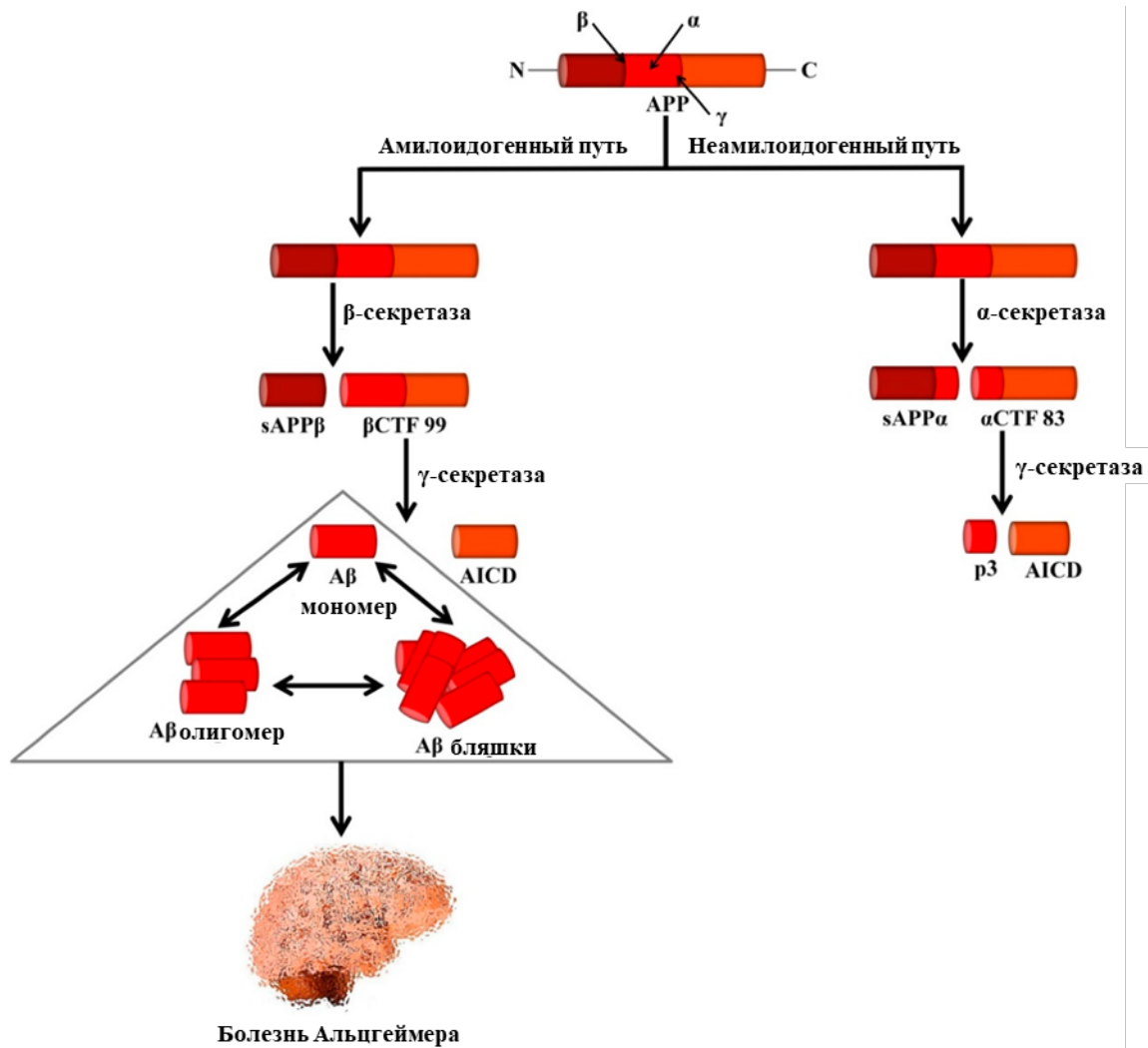


Рисунок 1. Процессинг APP секретазами. В амилоидогенном пути APP расщепляется  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазами, что приводит к образованию пептидов A $\beta$  и AICD. При неамилоидогенном пути APP расщепляется  $\alpha$ - и  $\gamma$ -секретазами, что приводит к образованию p3 и AICD. APP, белок-предшественник амилоида; sAPP $\alpha$ , растворимый APP $\alpha$ ; sAPP $\beta$ , растворимый APP $\beta$ ;  $\alpha$ CTF 83,  $\alpha$ -С-концевой фрагмент 83;  $\beta$ CTF 99,  $\beta$ -С-концевой фрагмент 99; AICD, внутриклеточный домен APP. По (Uddin et al., 2020).

В амилоидогенном пути APP расщепляется  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазами.  $\beta$ -секретаза (BACE1) принадлежит к семейству аспарагиновых протеаз, этот фермент может расщеплять APP на N-конце домена A $\beta$  по остатку Glu682, либо по остатку Asp672, так образуется растворимый sAPP $\beta$  и мембраносвязанный C-концевой фрагмент 99 (CTF99) (MacLeod et al., 2015). CTF99 затем расщепляется  $\gamma$ -секретазой, что приводит к образованию AICD и пептидов A $\beta$ .  $\gamma$ -Секретаза представляет собой

ферментативный комплекс из четырех белков: пресенилиновый энхансер 2 (PEN-2), пресенилин (PSEN), никастрин (NCSTN) и  $\gamma$ -секретазная субъединица 1 (APH1) (Li et al., 2009). В результате возможно образование различных изоформ А $\beta$  размером 39-43 аминокислоты, включая наиболее распространенные А $\beta$ 40 и А $\beta$ 42 (Haass et al., 2012). А $\beta$  пептиды склонны к агрегации, ведущей к образованию протофибрилл, фибрилл и олигомеров, откладывающихся в мозге (Masters et al., 2012). В последнее время именно олигомерам уделяется пристальное внимание со стороны исследователей (Cline et al., 2018).

Существует гипотеза о том, что способность А $\beta$  к саморазмножению сходна с таковой у прионов (Calabrò et al., 2021; Lau et al., 2021). Доказательство того, что А $\beta$  способен к саморазмножению было получено в исследованиях *in vivo* при введении APP23 мышам высокоочищенного А $\beta$ , полученного из мозга, или фибрилл А $\beta$ , сформированных *in vitro*. Инъекция А $\beta$  ускоряет появление агрегатов А $\beta$  в мозге, кроме того, изначально отложения наблюдались рядом с местом введения, а затем распространялись в другие области мозга (Meyer-Luehmann et al., 2006; Stöhr et al., 2012). Помимо саморазмножения, А $\beta$  обладает дополнительными биологическими и физическими прионоподобными свойствами. Фибриллы А $\beta$  имеют богатую  $\beta$ -складчатую структуру и обладают повышенной устойчивостью к химической денатурации и расщеплению протеазами. В денатурирующих условиях А $\beta$  теряет свою способность к саморазмножению, что показывает важность структуры для этого процесса (Condello et al., 2018).

Олигомеры А $\beta$  взаимодействует с различными рецепторами, такими как PrP<sup>C</sup>, LirB2, NgR1, эфриновые рецепторы EphA1, EphA4 и EphB2, низкоаффинный рецептор IgG Fc $\gamma$ RIIb, родственный сортилину рецептор SorLA, сортилин, p75<sup>NTR</sup>, PGRMC1, нейроглин 1 (NLGN1), RAGE, frizzled-5 (FZD5), метаботропный глутаматный рецептор 5 (mGluR5),  $\alpha$ 7-никотиновый ацетилхолиновый рецептор ( $\alpha$ 7nAChR) (Jarosz-Griffiths et al., 2016; Smith et al., 2019), что приводит к синаптическим дисфункциям, окислительному стрессу, нейровоспалению (Chen et al., 2017).

### 1.1.2. Тау белок

Тау – один из белков, ассоциированных с микротрубочками. Его основной функцией в норме является модулирование стабильности аксональных микротрубочек. Для БА характерны внутриклеточные отложения агрегатов гиперфосфорилированного тау-белка – нейрофибриллярные клубки (НФК, NFT), отдельные филаменты тау-белка в составе NFT называют «парные спиральные филаменты» (paired helical filaments, PHF) (Mondragón-Rodríguez et al., 2020).

Тау-белок состоит из четырех доменов: кислого N-концевого домена; богатого пролином домена; домена, содержащего сайты связывания тубулина, и нейтрального C-концевого домена (Mammeri El et al., 2022). Белок расположен в основном в соме и в аксонах нейронов, он хорошо растворим и имеет развернутую структуру (Wang et al., 2016). В наиболее длинной изоформе тау имеется 85 сайтов потенциальных сайтов для фосфорилирования (80 Ser или Thr и 5Tyr) и многие из них доступны благодаря развернутой структуре белка (Hanger et al., 2009). При БА фосфорилирование увеличивается до примерно восьми фосфатов на молекулу, что было обнаружено в результате *post mortem* биопсии мозга пациентов (Matsuo et al., 1994).

Тау фосфорилируется большим количеством киназ, включая протеинкиназу А (РКА) по Ser214 (pS214Tau). Это важный ранний этап, так как в результате тау отделяется от микротрубочек. Появление pS214Tau связывают с дисрегуляцией кальциевого обмена. Затем pS214Tau фосфорилируется в дополнительных сайтах, что приводит к гиперфосфорилированию. Одним из основных ферментов этого процесса является киназа гликогенсинтаза-3β (GSK-3β) (Arnsten et al., 2021). Гиперфосфорилирование предположительно изменяет конформацию тау-белка таким образом, что сайты связывания микротрубочек становятся экспонированными, что приводит к самоагрегации и олигомеризации (Muralidar et al., 2020).

Патологическая конформация и последующая агрегация вызывает потерю микротрубочек, что в свою очередь приводит к последующей клеточной

дисрегуляции, включающей нарушение митохондриального транспорта, дефекты аксонального транспорта и дефицит синапсов (Li et al., 2018).

Как и Аβ, тау-белок демонстрирует прионоподобные свойства. Предположительно, высвобождение тау из нейрональных клеток представляет собой пресинаптический механизм, который стимулируется активностью нейронов через кальций-зависимую активацию AMPA рецепторов (Pooler et al., 2013). Агрегаты тау-белка затем захватываются нейронами с помощью эндоцитоза (Sonawane et al., 2018). Так олигомеры тау-белка, полученные из мозга пациентов с БА, при введении в гиппокамп, затем были обнаружены в соседних регионах: мозолистом теле, коре и гипоталамусе мышей, что свидетельствует о прионоподобном распространении этих олигомеров (Lasagna-Reeves et al., 2012).

### **1.1.3. Окислительный стресс**

Активные формы кислорода (АФК) важны для поддержания гомеостаза, так как они функционируют в качестве вторичных мессенджеров во внутриклеточных сигнальных каскадах. Однако окислительно-восстановительный дисбаланс или дисфункция антиоксидантной системы могут вызвать избыточное образование АФК – окислительный стресс, – что может привести к нарушениям функционирования клеток и апоптозу (Teixeira et al., 2019). Мозг – орган, который потребляет большое количество кислорода, приблизительно на 20% больше, чем другие ткани, использующие митохондриальное дыхание, в нем высокая скорость метаболических процессов и высокое содержание липидов (>50% сухого вещества), что делает его наиболее уязвимым для окислительного стресса (Kumar Thakur et al., 2018).

В норме митохондрии имеют систему антиоксидантной защиты от АФК, образующихся в результате работы электрон-транспортной цепи, включая такие ферменты, как цитохром-с-оксидаза. При БА отмечается снижение ее уровня в гиппокампе (Mutisya et al., 2002). Кроме того, олигомеры Аβ накапливаются во внутренней мембране митохондрий, нарушая работу электрон-транспортной цепи, тем самым дополнительно увеличивая образование АФК (Manczak et al., 2006).

Митохондриальный аксональный транспорт нарушается в мозге при БА из-за диссоциации гиперфосфорилированного тау из микротрубочек, что также приводит к окислительному стрессу в нейронах (Mondragón-Rodríguez et al., 2013).

Переокисление двойных связей полиненасыщенных липидов в нейронах приводит к образованию биохимически активных побочных продуктов, включая 4-гидрокси-2,3-ноненаль (HNE), малоновый диальдегид и F2-изопростаны. Эти вещества чрезвычайно активны и способны стимулировать гиперфосфорилирование тау, нарушение внутриклеточного сигнального Ca<sup>2+</sup> пути и индукцию апоптотического каскада. Кроме того, HNE связывается с доменом, содержащим сайты связывания тубулина, гиперфосфорилированного тау белка и способствует его агрегации (Pérez et al., 2002). Нуклеотиды, присутствующие в ядерной и митохондриальной ДНК, также уязвимы к повреждению АФК посредством гидроксирования, карбонилирования и нитрования (Sayre et al., 2002; Tamagno et al., 2003). Кроме того, АФК ускоряют окисление гликированных белков. Взаимодействие конечных продуктов гликирования (КПГ, AGE) со своими рецепторами RAGE вызывает высвобождение медиаторов воспаления, таких как оксид азота (N<sub>2</sub>O), интерлейкин-1 (IL-1) и фактор некроза опухоли-α (TNF-α), что дополнительно способствует повреждению нейронов. Гликированный тау-белок становится КПГ и теряет способность связываться с микротрубочками, что способствует образованию фибрилл (Cassidy et al., 2020). Аβ также способен гликироваться, образование КПГ из мономеров Аβ усиливают его олигомеризацию (Cheignon et al., 2018).

Таким образом возникает положительная обратная связь, ведущая к увеличению выработки АФК – окислительный стресс усиливает агрегацию Аβ и фосфорилирование тау, что в свою очередь приводит к дальнейшему возрастанию уровня АФК. Этот патофизиологический каскад в итоге ведет к существенному повреждению нейронов (Gella et al., 2009).

#### 1.1.4. Метаболизм глюкозы

В нормальных условиях мозгу для функционирования необходимо до 25% от всей глюкозы в организме. Регуляция метаболизма глюкозы в мозге включает два основных процесса: транспорт через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и внутриклеточный катаболизм. На ранних стадиях БА отмечается снижение метаболизма глюкозы в гиппокампе и задней части поясной извилины, которое затем распространяется на височно-теменную кору по мере прогрессирования заболевания с дальнейшим распространением на лобную и затылочную кору (Calsolaro et al., 2016). При БА также снижается экспрессия транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT3, особенно в коре головного мозга (Chen et al., 2013c). Была обнаружена корреляция между сахарным диабетом 2 типа (СД2) и БА. У пациентов с СД2 в два-три раза повышен относительный риск развития БА (Arvanitakis et al., 2004). Метаболический синдром, характеризующийся резистентностью к инсулину, также увеличивает риск БА (García-Lara et al., 2010). И наоборот, пациенты, страдающие от БА имеют повышенный уровень глюкозы натощак и выраженную инсулинорезистентность, что ведет к повышенному риску возникновения СД2 (Janson et al., 2004).

В патогенезе БА играет роль снижение экспрессии инсулина, инсулиноподобных факторов роста -1 и -2 (ИФР-1, -2), а также их рецепторов. Это снижение коррелирует патологическими изменениями, включая повышение активности GSK-3 $\beta$  и уровня мРНК APP. Периферическая гиперинсулинемия подавляет транспорт инсулина через ГЭБ, что способствует снижению его уровня в мозге пациентов с БА (Chen et al., 2013c). Олигомеры A $\beta$  могут индуцировать фосфорилирование субстрата инсулинового рецептора 1 (IRS-1) по нескольким остаткам серина (pSer307-IRS-1 и pSer312/616-IRS-1) и ингибировать физиологически фосфорилированный IRS-1 (pTyr465-IRS-1) (Bomfim et al., 2012). Фосфорилирование IRS-1 по серину может нарушать передачу сигнала с помощью фосфатидилинозитид-3-киназного каскада PI3K/Akt, что приводит к снижению экспрессии PI3K/Akt-опосредованных глюкозных транспортеров GLUT4 и, как следствие, гипометаболизму глюкозы в мозге и последующему снижению

продукции АТФ митохондриями (Bosco et al., 2011; Zheng et al., 2021). Также нарушение передачи сигналов инсулин-PI3K-Akt может способствовать нейродегенерации. при БА за счет снижения O-GlcNAцилирования (Liu et al., 2011). Это тип O-гликозилирования белка, при котором моносахарид  $\beta$ -N-ацетилглюкозамин (GlcNAc) присоединяется к остаткам серина/треонина через O-гликозидную связь. Подобно другим цитоплазматическим белкам, тау подвергается O-GlcNAцилированию по специфическим остаткам серина (Ser) и треонина (Thr), которые также могут быть фосфорилированы. O-GlcNAцилирование и фосфорилирование являются взаимоисключающими, что позволяет предположить, что нарушение O-GlcNAцилирования может вызывать гиперфосфорилирование и агрегацию тау (Gatta et al., 2016).

#### **1.1.5. Ионы металлов**

При БА в мозге увеличивается содержание таких ионов как  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  (Isaev et al., 2020). Катионы  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  способны связываться с гидрофильными N-концами пептидов А $\beta$ , где они вступают в окислительно-восстановительные реакции, продуцируя значительное количество АФК, усиливая окислительный стресс (Kozłowski et al., 2012). Связывание ионов металлов с мономерами А $\beta$  способствует их более легкой агрегации в нейротоксичные олигомеры (Sahoo et al., 2021). Подобным образом, связываясь с тау-белком, ионы металлов способствуют его фосфорилированию, а также образованию PHF за счет активации киназ, которые фосфорилируют тау, таких как GSK-3 $\beta$ , и ингибирования киназ, ответственных за дефосфорилирование, таких как фосфатаза 2A, накопление  $\text{Fe}^{3+}$  в NFT усиливает окислительно-восстановительные процессы, генерируя АФК тем самым вызывая окислительный стресс в клетке (Sun et al., 2012).

#### **1.1.6. Холинергическая гипотеза**

Ацетилхолин (АЦХ) является одним из основных нейромедиаторов в мозге. Поражение холинергической системы отмечается уже на бессимптомной стадии БА. Причем нарушения отмечаются на пресинаптическом уровне – в базальном



крупноклеточном ядре Мейнерта и нейронах, идущих в неокортекс, гиппокамп и миндалевидное тело. Согласно холинергической гипотезе БА нарушения регуляции холинергической нейротрансмиссии и изменение уровней холинергических маркеров, таких как АЦХ, холин, холин-ацетилтрансфераза (ХАТ), являются первопричиной заболевания (Bekdash, 2021). На поздней стадии БА у пациентов отмечается снижение активности ХАТ в гиппокампе, коре и миндалевидном теле, а также снижение активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ) (Parnetti et al., 2002). Также отмечается снижение экспрессии мускариновых М2-рецепторов (в основном пресинаптические), но не М1-рецепторов (о основном постсинаптические) (Hampel et al., 2018). Однако было показано, что нарушается связь М1-рецепторов с их G-белками, причем это снижение коррелирует с тяжестью когнитивных симптомов (Pakaski et al., 2008). Среди никотиновых холинорецепторов в мозге наиболее распространены  $\alpha 4\beta 2nAChR$  и  $\alpha 7nAChR$  – при БА снижается плотность обоих этих типов рецепторов (Wu et al., 2010). С физиологической точки зрения активация  $\alpha 7nAChR$  в микроглии играет роль в активации противовоспалительных путей и регуляторов окислительного стресса, а  $\alpha 4\beta 2nAChR$  вовлечен в когнитивные процессы (Bekdash, 2021). Уменьшение плотности этих рецепторов положительно коррелирует с тяжестью когнитивных нарушений у пациентов с БА (Meyer et al., 2014). Кроме того,  $\alpha 7nAChR$ , обладая высоким сродством с  $A\beta 1-42$ , участвует в интернализации  $A\beta$ , способствуя его накоплению внутри нейронов (Pakaski et al., 2008). Активация рецепторов АЦХ также оказывает влияние на процессинг APP. М1/М3-рецепторы стимулируют экспрессию APP, а также активность  $\beta$ -секретазы, при этом уменьшая количество  $A\beta 1-42$ , не влияя на  $A\beta 1-40$  (Caccamo et al., 2006). nAChR также стимулируют экспрессию APP, активация  $\alpha 7nAChR$  стимулирует его расщепление по неамилоидогенному пути, увеличивая содержание sAPP $\alpha$ , возможно за счет модуляции расщепления APP  $\alpha$ -секретазой (Qi et al., 2007).

## 1.2. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА И ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ДЛЯ ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

### 1.2.1. Препараты, направленные на А $\beta$

Большее количество новых потенциальных лекарственных средств против БА направлено на предотвращение накопления А $\beta$ . Перспективным направлением является модуляция процессинга APP, поскольку его расщепление  $\alpha$ -секретазой предотвращает образование А $\beta$ . В качестве лекарственных препаратов исследовались вещества, обладающие возможностью усиливать действие  $\alpha$ -секретазы путем активации соответствующих сигнальных каскадов, в частности, за счет протеинкиназы C (PKC), ионов Ca<sup>2+</sup>, тирозинкиназы и MAP-киназы (МАРК) (Bandyopadhyay et al., 2007). В то же время исследования показали, что препараты из других групп могут влиять на активность действия  $\alpha$ -секретазы. Так селегилин (L-депренил) – специфический ингибитор моноаминоксидазы (MAO) типа B – повышает активность  $\alpha$ -секретазы, способствуя сближению PKC $\alpha$ / $\epsilon$  и ее субстрата ADAM10 (Hong-Qi et al., 2012). Аторвастатин, препарат из группы статинов, индуцирует активацию  $\alpha$ -секретазы, однако он не оказался эффективным в клинических испытаниях (Feldman et al., 2010). Несколько веществ, потенциально являющихся непрямыми активаторами  $\alpha$ -секретазы, находятся на стадии клинических испытаний, в их числе этазолат (ЕНТ0202, модулятор ГАМК-рецепторов), PRX-03140 (агонист 5-HT<sub>4</sub>-рецепторов), эпигаллокатехин-галлат (EGCG, представляет собой полифенольное соединение, экстрагированное из зеленого чая) и другие (Uddin et al., 2020).

Другие фармакологические мишени, связанные с процессингом APP – это  $\beta$ -секретаза (BACE1) и  $\gamma$ -секретаза. В качестве ингибиторов BACE1 исследовались агонисты PPAR $\gamma$  производные тиазолидиндиона (пиоглитазон и розиглитазон). Однако в клинических исследованиях они оказались недостаточно эффективны (Feldman et al., 2010; Harrington et al., 2011). Пероральный ингибитор BACE1 первого поколения BI 1181181 не прошел клинические испытания из-за низкой способности проникать через ГЭБ и низкой биодоступности (Bazzari et al., 2022).

Ингибиторы BACE1 второго поколения, включая LY2886721, LY2811376 и RG7129, также не прошли клинические испытания из-за гепатотоксичности. Третье поколение, включающее JNJ-54861911, CNP520 и AZD3293, оказалось недостаточно эффективным (Uddin et al., 2020). Разработка ингибиторов  $\gamma$ -секретазы осложнена тем, что этот фермент расщепляет множество субстратов кроме APP, в том числе Notch – что приводит к освобождению его внутриклеточного домена, который перемещается в ядро и регулирует экспрессию генов. Множественность действия  $\gamma$ -секретазы становится причиной побочных эффектов при применении ее ингибиторов (Mondal et al., 2021). В частности семагестат (LY450139) не прошел испытания ввиду его недостаточной эффективности, повышенного риска кожных инфекций и рака (Doody et al., 2013). Таким образом стали разрабатываться Notch-сохраняющие ингибиторы определенных сайтов  $\gamma$ -секретазы нового поколения. NIC5-15, бегагестат (GSI-953) и авагагестат (BMS-708163) представляют собой такие ингибиторы, проходящие клинические исследование (Gillman et al., 2010; Imbimbo, 2008).

Другие препараты, направленные на  $A\beta$ , относятся к антиагрегаторам. Трампиролат представляет собой небольшой аминосульфат для перорального применения, который обладает способностью связываться с Lys28, Lys16 и Asp23  $A\beta$ 42, такое связывание может привести к стабилизации мономера  $A\beta$ 42, дополнительно уменьшая агрегацию бляшек и олигомерных амилоидов (Kocis et al., 2017). Пероральное введение стереоизомеров циклогексангексола трансгенным мышам TgCRND8 AD подавляло агрегацию  $A\beta$  в высокомолекулярные олигомеры, стабилизируя его в форме мономера (McLaurin et al., 2006). Куркумин (дифенол, экстрагированный из корневища *Curcuma longa*) снижал концентрацию  $A\beta$  и количество бляшек на моделях БА. Он может связываться как с фибриллами  $A\beta$ , так и с олигомерами, а также снижает нейротоксичность агрегатов (Mishra et al., 2008). Однако куркумин в 24-недельном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании у пациентов с БА легкой и средней степени тяжести не продемонстрировал каких-либо клинических эффектов (Ringman et al., 2012).

Также проводились исследования вакцинации против Аβ и она оказалась эффективной на животных моделях БА (Bard et al., 2000). Были разработаны пептидные вакцины для активной иммунизации, в которых были удалены фрагменты, ответственные за активацию Т-клеток, что может приводить к аутоиммунным воспалительным реакциям, и остались фрагменты, необходимые для продукции специфических антител к Аβ. Три такие вакцины AFFITOPE, ACC-001 и CAD106 проходят II фазу клинических испытаний (Lambracht-Washington et al., 2013). AFFITOPE AD01 и AD02 – вакцины на основе гемоцианина лимфы улитки с синтетическим пептидом из 6 аминокислот, который имитирует N-конец Аβ, а небольшой размер этих вакцин предотвращает активацию Т-клеток (Schneeberger et al., 2009). ACC-001 представляет собой конъюгат нескольких коротких фрагментов Аβ, связанных с носителем, состоящим из инактивированных токсинов дифтерии. В исследованиях II фазы применение ACC-001 было прекращено из-за сильного аутоиммунного ответа (Zampar et al., 2020). Также разработаны препараты для пассивной иммунизации (прямое введение антител) – бапинеузумаб и соланезумаб. Они представляют собой гуманизированные моноклональные антитела, бапинеузумаб нацелен на N-концевой фрагмент А, а соланезумаб нацелен на внутренний эпитоп Аβ13-28. Клинические испытания не показали достаточной эффективности этих вакцин (Salloway et al., 2014; Samadi et al., 2011).

### **1.2.2. Препараты, направленные на тау белок**

Поскольку фосфорилированные формы тау белка обладают пониженной способностью связывать микротрубочки, клинический интерес представляют вещества, способные стабилизировать микротрубочки. Так ТР1 287, синтетическое производное таксола, способное связывать тубулин и стабилизировать микротрубочки, уменьшил количество гиперфосфорилированного тау и снизил дефицит пространственной памяти на мышинной модели БА. Однако в результате клинических испытаний ТР1 287 вызывал серьезные побочные эффекты, что привело к прекращению исследований (Ceuzériat et al., 2020).

Ингибиторы киназ также являются интересными мишенями для предотвращения гиперфосфорилирования тау. Тидеглусиб, ингибитор GSK-3 $\beta$ , оказался эффективен на модели БА у мышей и в I фазе клинических испытаний, однако на II фазе его эффективность не подтвердилась (Lovestone et al., 2015). В настоящее время соединения, нацеленные на другие модификаторы белка тау (регуляторы фосфатаз, ингибиторы ацетилирования или дегликозилирования и ингибиторы каспаз) разрабатываются для различных таупатий и, следовательно, могут представлять интерес для терапии БА. Тем не менее, важно отметить, что киназы и фосфатазы обладают ферментативной активностью по отношению к множеству мишеней; следовательно разрабатываемые агенты должны обладать высокой специфичностью по отношению к тау, чтобы избежать воздействия на другие белки (Congdon et al., 2018).

К антиагрегантным соединениям первого поколения относится Rember™ (очищенный хлорид метилтиониния, также известный как метиленовый синий), *in vitro* он ингибирует киназу, регулирующую сродство к микротрубочкам 4 (MARK4) и оказался достаточно эффективен при клинических испытаниях у пациентов с легкой и средней степенью тяжести БА (Wischik et al., 2008). Однако из-за его побочных эффектов было разработано следующее поколение этого препарата – TRx0237 (LMTX™), который проходит клинические исследования (Huang et al., 2020).

Ведутся разработки активной и пассивной иммунотерапии против тау. Антитела могут быть нацелены на N- или C-концевой фрагмент, промежуточные фрагменты, участвующие в агрегации или во взаимодействии тау с микротрубочками. Два препарата для активной иммунизации, ACI-35 и AADvac1, находятся на стадии клинических исследований (Song et al., 2022). ACI-35 – это вакцина, которая содержит 16 копий синтетического тау-фрагмента, фосфорилированного по остаткам Ser396 и Ser404, с целью вызвать иммунный ответ на патологические формы фосфорилированного тау без усиления аутоиммунного ответа В- или Т-клеток против физиологических форм. Первоначальная форма вакцины хорошо переносилась, но была переработана из-за

слабого иммунного ответа. Вакцина второго поколения АСІ-35.030 генерировала в 50 раз больше антител по сравнению с АСІ-35, а ревакцинация усиливала этот эффект (Ji et al., 2021). В АADvac-1 используется синтетический пептид, полученный из аминокислот 294–305 последовательности тау (KDNIKHVPGGGS). Препарат прошел I и II фазу клинических исследований (Sandusky-Beltran et al., 2020). Также проходят испытания препараты для пассивной иммунизации – RO 7105705, C2N 8E12, LY3303560, ВІВ092, ВІВ076 и JNJ-63733657 (Ceyzériat et al., 2020).

### **1.2.3. Антиоксиданты**

Представляется целесообразным использование природных антиоксидантов в составе комплексной терапии БА. Так, в качестве терапевтического агента для борьбы с окислительным стрессом, присутствующим при БА, рассматривался витамин Е. Однако он не показал достаточной эффективности при клинических исследованиях (Polidori et al., 2014), что может быть связано с ограниченным транспортом витамина Е в мозг (Spector et al., 2007). Полифенолы, например ресвератрол и кверцетин, способны ограниченно проникать в мозг и показали многообещающие результаты в доклинических исследованиях (Perluigi et al., 2006). Одним из механизмов защитных свойств полифенолов является так называемый горметический эффект – они вызывают умеренный окислительный стресс, в ответ на который организм активирует системы антиоксидантной защиты. Это приводит к увеличению уровня антиоксидантов глутатиона и гемоксигеназы 1 (НО-1), опосредованное активацией транскрипционного фактора NRF2 (Butterfield et al., 2019). NRF2 широко экспрессируется в тканях, но большая его часть сохраняется в неактивной форме за счет связывания с белком KEAP1, что также вызывает протеасомную деградацию NRF2. Увеличение окислительного стресса может активировать протеинкиназы, которые фосфорилируют цитоплазматический NRF2, вызывая его отсоединение от KEAP1. Затем NRF2 мигрирует в ядро и инициирует транскрипцию генов антиоксидантной защиты. KEAP1 богат остатками цистеина, и его модификация с помощью АФК и/или ксенобиотиков,

таких как сульфорафан или куркумин, также может остановить протеасомную деградацию NRF2 (Fakhri et al., 2020). Показано, что нокаут NRF2 усугубил когнитивные нарушения на мышинной Tau P301S модели БА, что указывает на важность этой системы (Riordan et al., 2023). Полифенолы в модели БА *in vivo* показали нейропротекторный, противовоспалительный и антиоксидантный эффекты (Perluigi et al., 2006). Однако, так как полезные эффекты полифенолов связаны с гормезисом, передозировка может привести к усугублению окислительного стресса. В качестве потенциально эффективных средств также рассматриваются проникающие в мозг антиоксиданты, такие как эрготионеин (Halliwell et al., 2018), тритерпеноиды, способные активировать NRF2 (Butterfield et al., 2019), митохондриально направленные антиоксиданты, в том числе SkQ (Isaev et al., 2016; Ng et al., 2014).

#### **1.2.4. Препараты для лечения диабета**

В связи с наличием общих патогенетических путей между БА и СД2, таких как инсулинорезистентность, было высказано предположение об эффективности препаратов для лечения СД2 при терапии БА (Meng et al., 2020). Наиболее распространенная мишень такой терапии – рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором (PPARs), их активация может повышать чувствительность к инсулину, улучшать функцию митохондрий, модулировать метаболизм глюкозы и уменьшать воспалительные реакции (Brunetti et al., 2020). Росиглитазон – агонист  $\gamma$ -PPAR, широко используемый в лечении СД2. В небольшом клиническом исследовании было показано, положительное влияние Росиглитазона на когнитивные функции, однако в последующих исследованиях этот эффект не наблюдался (Chen et al., 2013c). Другой подход заключается в интраназальном введении инсулина. Было показано, что такое введение инсулина предотвращает ухудшение когнитивных функций, поражение белого вещества, церебральную атрофию, накопление  $A\beta$ , а также гиперфосфорилирование тау в моделях сахарного диабета (Francis et al., 2008; Yang et al., 2013). В клинических исследованиях интраназальное введение инсулина на ранних стадиях БА улучшало

память и внимание пациентов, без значительных побочных эффектов, включая изменение уровня инсулина или глюкозы в крови, кроме того преимуществом является неинвазивность такого метода введения, который, предположительно, позволяет доставлять вещество напрямую в мозг (Reger et al., 2008; Shemesh et al., 2012). Глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1) также рассматривается как потенциальный препарат для лечения БА. GLP-1 стимулирует секрецию инсулина. Исследования показали, что эксендин-4, аналог GLP-1, предотвращает нейротоксичность  $A\beta$ 1 у трансгенных мышей с БА (Hamilton et al., 2011). Было показано, что другой аналог GLP-1, Val (8)-GLP-1(7-36), восстанавливает когнитивные нарушения и подавление долговременной потенциации (LTP), индуцированные  $A\beta$  (Wang et al., 2010).

### **1.2.5. Препараты, направленные на холинергическую систему**

БА сопровождается снижением уровня АЦХ. Одной из самых популярных терапевтических мишеней холинергической системы является АХЭ. Ингибиторы АХЭ (ИАХЭ) клинически одобрены для терапии пациентов с БА и могут облегчить когнитивные нарушения за счет ингибирования деградации АЦХ (Chen et al., 2022). К первому поколению этой группы препаратов относится такрин, производное 1,2,3,4-тетрагидроакридина. Это был первый препарат, одобренный для лечения БА. Он ингибирует АХЭ в тканях и плазме, а также способствует высвобождению АЦХ через M1-рецепторы. Однако такрин почти не используется в настоящее время из-за его гепатотоксичности, поскольку он подвергается метаболизму до токсичных видов хинонметидов с помощью фермента цитохрома P450 CYP1A2 (McEneny-King et al., 2017). Наиболее широко распространенные ИАХЭ второго поколения, одобренные FDA (Food and Drug Administration), – донепезил, ривастигмин и галантамин. Донепезил одобрен в качестве препарата первой линии для симптоматической терапии БА. Он улучшает когнитивные функции за счет ингибирования ферментативной деградации АЦХ, тем самым усиливая холинергическую нейротрансмиссию. Было показано, что донепезил снижает уровень  $A\beta$  и предотвращает потерю синапсов у трансгенных мышей Tg2576, а



также улучшает когнитивные функции, снижает накопление Аβ в гиппокампе у 3×Tg-AD мышей, кроме того протеомный анализ гиппокампа этих животных выявил увеличение экспрессии регулятора митохондриальной аутофагии PINK 1, который отвечает за избирательное удаление поврежденных митохондрий (Brewster et al., 2019; Zhou et al., 2019). Ривастигмин одобрен в качестве препарата для симптоматического лечения БА легкой и средней степени тяжести. В дополнение к антихолинэстеразной активности ривастигмин также стимулирует расщепление APP α-секретазой, а не β-секретазой (Ray et al., 2020). Галантамин также является аллостерическим агонистом nAChR, оказывает противовоспалительное действие, защищает нейроны от окислительного повреждения (Marucci et al., 2021).

В дополнение к четырем ИАХЭ, одобренным FDA, существуют и другие перспективные препараты, которые находятся на стадии изучения. Например, гуперзин А – средство, извлекаемое из креветок *Huperzia serrata*, использовалось в традиционной китайской медицине Китае для лечения лихорадки и воспаления. Гуперзин А действует как ингибитор АХЭ, а также усиливает ГАМК-ергическую передачу, связанную с противосудорожной активностью (Damar et al., 2016). Вальпроевая кислота, ингибитор гистондеацетилазы, нормализовала активность АХЭ и восстанавливала уровень АЦХ в мышечной модели БА, индуцированной внутрижелудочковым введением стрептозотоцина (Sorial et al., 2017). Также как эффективные ингибиторы холинэстеразы идентифицированы соединения производные изоаллоксазина, в экспериментах *in vitro* у них обнаружены анти-Аβ-агрегационная активность и антиоксидантные свойства (Machhi et al., 2016). Однако ИАХЭ оказывают только симптоматическое действие при лечении БА и этот эффект не является устойчивым.

### 1.2.6. Другие препараты

Для пациентов с умеренной и тяжелой БА FDA одобрен единственный антагонист NMDA-рецепторов – мемантин. Он оказывает ингибирующее действие на NMDAR-опосредованную эксайтотоксичность. Возбуждающая

глутаматергическая нейротрансмиссия через NMDA-рецепторы имеет решающее значение для синаптической пластичности и выживания нейронов. Чрезмерная активность NMDA-рецепторов приводит к эксайтотоксичности, которая опосредована избыточным входом  $Ca^{2+}$  в нейроны и вызывает постепенную потерю синаптической функции, гибель нейронов и нейродегенерацию в мозге при БА (Liu et al., 2019a). Мемантин блокирует преимущественно несинаптические NMDA-рецепторы и не диссоциирует с ними при патологической гиперактивации, позволяя при этом передавать физиологические сигналы (Danysz et al., 2012). Было показано, что мемантин увеличивает высвобождение нейротрофических факторов из астроглии (Wu et al., 2009). Снижение экстрасинаптической активности мемантином уменьшает  $A\beta$ -индуцированную нейротоксичность (Miguel-Hidalgo et al., 2002). Среди новых блокаторов NMDA-рецепторов – RL-208 улучшает синаптическую пластичность и снижает фосфорилирование тау на линии мышей с ускоренным старением SAMP8 (Companys-Alemanu et al., 2020); JCC-02, N-(3,5-диметиладамантан-1-ил)-N'-(3-хлорфенил)мочевина, проникает через ГЭБ, а также улучшает когнитивные функции у крыс с поврежденным ядром Мейнерта, вызванным введением хинолиновой кислоты (Companys-Alemanu et al., 2020).

Так как у пациентов с БА наблюдается дефицит витамина В1 (тиамин), играющего важную роль во всех видах обмена (белковом, жировом, углеводном), а также в процессах проведения нервного возбуждения, были проведены исследования его и его производных в качестве потенциальных терапевтических агентов. Пероральное введение тиамин показало умеренный положительных эффект в исследованиях на пациентах (Blass et al., 1988; Meador et al., 1993). Также выявлены прокогнитивные эффекты для комбинации сульбутиамина и ингибитора АХЭ (Ollat et al., 2007), фурсултиамина (Mimori et al., 1996) и бенфотиамина (Pan et al., 2010). К положительным аспектам этих препаратов можно отнести низкую стоимость и малую токсичность, однако они требуют дальнейших исследований.

Как перспективные для лечения БА рассматривались препараты на основе крови или гомогенатов мозга животных, таких как актовегин (Gavrilova et al., 2008) и церебролизин (Gavrilova et al., 2008). Такие препараты содержат биологически

активные нейропептиды и другие молекулы, способные проникать через ГЭБ и оказывать трофическое действие в отношении нервной ткани (Gromova et al., 2015). Так, в одном из исследований внутривенное введение сыворотки молодых особей (3-месячных мышей) пожилым мышам (12 месяцев) привело к ослаблению когнитивных нарушений, уменьшению отложений А $\beta$  в гиппокампе, восстановлению синапсов (Xia et al., 2019). Таким образом, экзогенная сыворотка потенциально может играть терапевтическую роль при когнитивных нарушениях, связанных с БА. Однако в клинических исследованиях эффективность препаратов этой группы не доказана.

Основываясь на гипотезе множественных патогенных каскадов, актуальна разработка комбинированной терапии, аналогично таковой для рака и СПИДа. При совместном применении мемантина и ингибиторов АХЭ в некоторых исследованиях был продемонстрирован синергетический эффект (Fox et al., 2006; Porsteinsson et al., 2008). Также были исследованы комбинации НПВП, статинов и ингибиторов  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазы (Asai et al., 2010), такрина и мелатонина (Spuch et al., 2010), селегилина и витамина E (Sano et al., 1997), индометацина и ингибитора АХЭ (Parachikova et al., 2010). В настоящее время комбинированная терапия, включающая ингибиторы АХЭ и мемантин, по-видимому, представляет собой наиболее эффективное лечение умеренной и тяжелой формой БА. Тем не менее, необходимо проведение клинических исследований об эффективности такой терапии на ранних стадиях БА. При комбинированной терапии также необходимо оценивать дополнительные факторы, такие как экономическая целесообразность (Kabir et al., 2020).

### 1.3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Экспериментальные модели БА играют важную роль на всех этапах исследования. Надлежащие модели необходимы как для изучения механизмов, лежащих в основе патогенеза БА, так и для тестирования терапевтического воздействия потенциальных терапевтических агентов на невропатологию и когнитивные функции (Lee et al., 2013). Можно выделить основные условные критерии «идеальной» модели: способность отражать патогенез заболевания и доступность. К первому относится патогенез на молекулярном/клеточном уровне (позволяет исследовать механизмы заболевания) и на уровне организма (для проведения доклинических исследований препаратов). Под доступностью понимается простота, скорость и стоимость исполнения (Iptyshev et al., 2016). Экспериментальные модели БА включают все основные категории: *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*.

#### 1.3.1. Модели *in silico*

Метод *in silico* представляет собой компьютерное моделирование эксперимента. Можно выделить три направления таких экспериментов: 1) анализ конформационных изменений и взаимодействий белков, вовлеченных в патогенез БА; 2) построение нейронных сетей; 3) математическое моделирование. Если первый подход направлен на изучение отдельных элементов патогенеза (Acosta et al., 2018), то последние два используют системный подход (Колобов и др., 2014). Методы нейрофизиологии и нейровизуализации, в сочетании с вычислительными методами, основанными на теории графов, были использованы для выявления паттернов активации нейронов здоровых людей и пациентов с БА, что в дальнейшем может позволить создать новый способ диагностики и мониторинга этого заболевания (Yong He et al., 2009). Для идентификации потенциальных мультитаргентных препаратов используют фармакологию количественных систем (QSP), в частности кортикально-субкортикальная компьютерная модель, включающую информацию о фармакологических мишенях в полосатом теле, бледном шаре и таламусе (Geerts et al., 2013). Таким образом, математические

подходы направлены на анализ совокупности известных паталогических процессов и поиск новых мишеней для терапевтического воздействия, что является сильным инструментом в дополнение к классическим экспериментам *in vitro* и *in vivo*.

### 1.3.2. Модели *in vitro* и *ex vivo*

Эффективной клеточной моделью БА является модель, в которой используется тип клеток, соответствующий конкретной области мозга, пораженной БА, а затем воспроизводятся все соответствующие патологические признаки БА в течение практической продолжительности культивирования. За последнее десятилетие было разработано несколько 2D и 3D клеточных моделей. *In vitro* модели БА обычно создаются либо путем введения синтетических соединений (например, Аβ) в клетки, либо путем введения в клетки генов, связанных с БА, с помощью технологий доставки генов, таких как трансфекция и трансдукция (Ranjan et al., 2018).

Первым требованием, предъявляемым к культуре, при разработке модели БА является ее способность дифференцироваться в нейроны. Наиболее часто в исследованиях использовали линии клеток первичной культуры, полученные от грызунов, такие как иммортализованные клетки гиппокампа крысы (Nguyen et al., 2010) и клетки нейробластомы человека (SH-SY5Y) (Agholme et al., 2010). Однако такой подход имеет ряд недостатков – культивирование в течение нескольких поколений к вариациям их генетических и физиологических свойств, а также к адаптации к конкретным условиям культивирования, что может вызывать различия между разными партиями одной и той же клеточной линии (Horvath et al., 2016). В последние годы были разработаны культуры нейронов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC). В 2011 году были получены первые iPSC от пациентов с наследственной формой БА с мутациями в генах *PSEN1* и *PSEN2*. В нейронах, полученных из этих клеток, наблюдалась повышенная секреция Аβ42 (Yagi et al., 2011). В дальнейшем были получены и другие культуры из iPSC пациентов, страдающих как от наследственной, так и от sporadicческой формы БА (Ranjan et al., 2018). Также были проведены

эксперименты с клетками, полученными от пациентов с синдромом Дауна, демонстрирующими сходную с болезнью Альцгеймера патологию (что связано с наличием трех копий гена APP, обусловленного трисомией 21-й хромосомы) (Shi et al., 2012). Тем не менее, двухмерные культуры недостаточно точно воспроизводят патологические признаки БА. Полученные из стволовых клеток нейроны культивируются непродолжительное время и могут быть недостаточно зрелыми, чтобы воспроизводить возрастные изменения. Уровень А $\beta$ , генерируемого в клеточных моделях, может быть недостаточно высоким для формирования бляшек. Кроме того, 2D-культуры не могут имитировать сложную трехмерную структуру мозга (D'Avanzo et al., 2015).

Для преодоления этих недостатков были предложены 3D клеточные модели БА, включающие многоклеточные агрегаты, культуры на основе матрикса и технологии микрофлюидики. Модели на основе агрегатов в основном представлены органотипическими или сфероидными культурами, основанными на самоорганизации. Модели на основе матрикса используют гидрогелевые матрицы в качестве субстрата для прикрепления и роста клеток и основаны на принципе инкапсуляции клеток внутри поддерживающего матрикса. В качестве клеточной культуры в этих моделях могут использоваться как iPSC, так и клетки-предшественники нейронов (Jorfi et al., 2018). Однако трехмерные платформы для культивирования клеток малоэффективны с точки зрения затрат и времени. В последнее десятилетие активно развивается технология микрофлюидики, потенциально способная преодолеть ограничения обычных 2D и 3D клеточных культур (Sharma et al., 2021). Микрофлюидные устройства позволяют создать слои клеток разных типов, смоделировать движение жидкостей и физические взаимодействия. Такая система получила название «орган-на-чипе». Она не только универсальна, но и экономична, поскольку для нее требуется небольшой объем образцов (клеток и культуральных сред) по сравнению с платформами 2D- и 3D-культуры клеток *in vitro*. Микрофлюидная платформа, имитирующая мозг, называется «мозг-на-чипе» и используется для исследования нейродегенеративных заболеваний и моделирования функциональной единицы мозга (например,

сосудисто-нервной единицы и нейронных сетей) (Holloway et al., 2021). В частности, была исследована токсичность различных форм А $\beta$ , и она оказалась выше у олигомеров, чем у фибрилл (Choi et al., 2013). Кроме того, патологические процессы, свойственные БА, наблюдались в системе, созданной с использованием нейронов, дифференцированных из нейрональных прогениторных клеток, с мутацией в гене APP (Park et al., 2018). Тем не менее, современные микрофлюидные системы не полностью повторяют все характеристики мозга и БА и не воспроизводят патологию на уровне организма.

В качестве *ex vivo* моделей нейродегенеративных заболеваний используются срезы различных участков мозга для дальнейшего культивирования или электрофизиологических экспериментов. Исследования проводились как со срезами, полученными от здоровых животных, так и от трансгенных мышей (Jang et al., 2018; Kniewallner et al., 2018; Sola et al., 2015). К преимуществам такого подхода можно отнести сохранение цитоархитектоники мозга, простоту получения; к недостаткам – небольшую продолжительность жизни препарата/культуры.

### 1.3.3. Модели *in vivo*

Модели болезни Альцгеймера на животных можно разделить на две категории: генетические и фармакологические. Обе они используются как с позвоночными, так и с беспозвоночными животными. Рассмотрим сначала первую группу.

Генетические модели подходят для изучения наследственных форм БА (БА с ранним началом), на которые приходится 5-10% от общего числа выявленных случаев (Reitz et al., 2020). Среди беспозвоночных животных наиболее активно используются круглый червь *Caenorhabditis elegans* и плодовая мушка *Drosophila melanogaster*. Гены и сигнальные пути беспозвоночных организмов хорошо подходят для изучения болезней человека, поскольку можно легко проводить как фармакологические, так и генетические манипуляции, чтобы понять функцию их ортологов *in vivo* (Farooqui, 2016). Большинство белков, ассоциированных с БА,

эволюционно консервативны и присутствуют у *Drosophila* и *C. elegans*, что делает эти организмы потенциально подходящими моделями для понимания молекулярных функций этих генов. У моделей беспозвоночных есть и другие преимущества. Они недороги, с ними легко работать, у них короткая продолжительность жизни, и часто они очень хорошо охарактеризованы с точки зрения стереотипного развития (Saraceno et al., 2013). *C. elegans* не может генерировать Аβ из-за отсутствия β-секретазы и другой аминокислотной последовательности этого пептида в белке APL-1 по сравнению с APP человека, поэтому с помощью генетической конструкции, напрямую синтезирующей человеческий Аβ в мышечных клетках стенки тела, была создана трансгенная линия CL2006. Для животных этой линии были характерны прогрессирующий паралич, обычно начинающийся в молодом возрасте, и преждевременная смерть. В дальнейшем были разработаны и другие трансгенные линии, экспрессирующие Аβ – GMC101 и CL4176 (Alvarez et al., 2022). Что касается моделей тауопатий у *C. elegans*, то большинство было получено путем пан-нейронной экспрессии нормального или мутантного тау человека, хотя также использовался эндогенный ортологичный тау белок, *ptl-1* (Pir et al., 2017). Сходным образом с помощью экспрессии человеческого тау белка и Аβ были разработаны модели на *Drosophila* (Bouleau et al., 2015). К недостаткам моделей на позвоночных можно отнести невозможность экстраполировать результаты поведенческих реакций.

Первая мышечная трансгенная модель с образованием отложений Аβ – PDAPP – была получена путем экспрессии мутантного APP V717F (Indiana) под контролем промотора PDGF. У мышей этой линии наблюдалось отложение Аβ, но не образовывались нейрофибрилярные клубки и не было явной потери нейронов в областях мозга, наиболее страдающих при БА (Dodart et al., 2005). Далее были разработаны две популярные модели с использованием мутации APP K670N, M671L (Sweden) – Tg2576 и APP23. Они отличаются изоформами мутантного APP и промоторами (Thy1 и PrP). Обе модели демонстрировали отложения Аβ, дефицит пространственной памяти и обучения, но у APP23 нарушения наблюдались раньше, а также была отмечена потеря нейронов (Myers et al., 2019). Модели J20 и



TgCRND8, сочетающие мутации Indiana и Sweden, демонстрируют более тяжелую патологию, однако следует отметить, что множественные мутации не встречаются у людей, что ограничивает использование этих линий (Drummond et al., 2017). В целом, для трансгенных моделей, основанных на APP, характерно сначала развитие нейродегенерации с отложениями A $\beta$  в гиппокампе, а затем и во фронтальной коре, что приводит к нарушению памяти (Колобов и др., 2014).

Существенным недостатком моделей APP является то, что они не образуют НФК (APP23 и Tg2576 в итоге обнаруживают повышенные уровни фосфорилированного тау, но не клубки). Простое введение человеческого тау белка мышам не приводило к агрегации (Dujardin et al., 2015). Линии ALZ7 и ALZ17 экспрессируют самую длинную изоформу человеческого белка тау (4R) под контролем промотора человеческого Thy-1 или мышиного Thy-1.2. Несмотря на то, что гиперэкспрессия немутантного белка приводила к фосфорилированию, этого оказалось недостаточно для того, чтобы индуцировать образование нейрофибрилярных клубков (Probst et al., 2000). Для воспроизведения НФК были созданы линии мышей JNPL3 и pR5, у которых происходит экспрессия мутантной формы человеческого тау белка (4R tau P301L). У 90% животных двигательные и поведенческие нарушения проявляются к десяти месяцам (Lewis et al., 2000). Для линий, основанных на экспрессии тау белка, более характерны двигательные нарушения, а нарушения памяти не являются основным симптомом, у этих линий также не наблюдалось накопления  $\beta$ -амилоида. Кроме того, отсутствие генетической мутации в гене *MAPT* при БА у людей затрудняет использование трансгенного подхода для создания релевантной мышиной модели (Kitazawa et al., 2012).

Вслед за первым поколением моделей на основе APP были предприняты попытки разработать трансгенные модели, содержащие мутации в гене, кодирующем пресенилин-1 (*PSEN1*), но они не смогли продемонстрировать ожидаемого фенотипа с когнитивными нарушениями. Затем было обнаружено, что двойные трансгенные модели, созданные в результате скрещивания животных с мутациями в гене пресенилина 1 и других линий с мутациями в гене APP, вызывают

устойчивую и ускоренную патологию по сравнению с моделями, содержащими только APP. Для них характерны прогрессирующие отложения  $\beta$ -амилоида, нарушения долговременной потенции, кратковременной, долговременной и пространственной памяти, нарушения базальной синаптической передачи. Данные модели позволяют относительно быстро наблюдать когнитивные нарушения, однако не предполагают тау-патологии и гибели нейронов. Примеры таких линий: TgCRND8/PS-1, PSAPP, 5xFAD и другие (Oakley et al., 2006; Philipson et al., 2010). Также к этой категории относится панель трансгенных линий мышей AD-BXD, созданная для моделирования генетического разнообразия, наблюдаемого в популяциях человека. Мыши AD-BXD были получены путем скрещивания самок мышей 5xFAD (три мутации APP (K670N/M671L, I716V, V717I) и две PS-1 (M146L, L286V), промотор – мышинный Thy-1) с самцами генетической контрольной панели BXD (набор рекомбинантных инбредных линий мышей, полученных в результате скрещивания двух инбредных линий - C57BL/6J и DBA/2J). Экспрессия трансгенов APP и PSEN1 не варьировала между линиями AD-BXD, так же, как и экспрессия эндогенного мышинного App и Psen1. Однако уровни A $\beta$ 42 и количество амилоидных бляшек отличались. Также различия наблюдались в координации, вестибулярной функции и мышечной силе. Когнитивные нарушения наблюдались на 14 месяцев жизни (Neuner et al., 2019).

Одна из самых популярных трансгенных линий – 3xTg-AD, «трижды трансгенные мыши», несущие трансгены PS1 M146V, APP<sup>Swe</sup> и Tau P301L, промотор мышинный Thy1.2. У этих животных внеклеточные отложения A $\beta$  появляются через 6 месяцев в лобной коре и становятся более обширными к 12 месяцам. Тау патология начинается позже, к 12–15 месяцам в гиппокампе (затем и в области коры) обнаруживаются агрегаты конформационно измененного и гиперфосфорилированного тау-белка. Когнитивные нарушения наблюдаются к 4 месяцам. В возрасте 6,5 месяцев у мышей 3xTg наблюдалось ухудшение в обучении и запоминании в лабиринте Барнса (Stover et al., 2015).

Среди других генов-мишеней для создания генетических моделей можно выделить APOE, BACE1 и NGF. Мыши EFAD (E4FAD, E3FAD, E2FAD) получены

в результате скрещивания между мышами 5xFAD и мышами с заменой эндогенного APOE на человеческий APOE4, APOE3 или APOE2. Эти модели были созданы для изучения роли трех человеческих изоформ APOE в фенотипах БА. У мышей E4FAD амилоидные бляшки образовывались медленнее, чем у 5xFAD. Через 4 и 6 месяцев у мышей E4FAD было значительно больше бляшек, чем у E3FAD и E2FAD. В мозге мышей E2FAD процент диффузных бляшек был выше по сравнению с мышами E4FAD. У всех мышей E4FAD был отмечен микроглиоз и астроцитоз в возрасте 6 месяцев. Мыши E4FAD имели более значительные когнитивные нарушения в Y-лабиринте и водном лабиринте Морриса (Youmans et al., 2012). Для создания линий, основанных на BACE1 (Human-BACE1, hBACE54, PLB4, hBACE) используется как мутантный, так и немутантный человеческий ген BACE1. Используется сам по себе (в таком случае не наблюдается образования бляшек и когнитивных нарушений, уменьшается количество полноразмерного APP) или в сочетании с геном APP (наблюдаются более тяжелые патологии) (Deu et al., 2020; Willem et al., 2004). В качестве модели БА рассматривается также линия anti-NGF мышей, экспрессирующих антитела к NGF. Происходят нейродегенеративные изменения, сопровождающиеся нарушениями когнитивных функций, проявляющихся в тестах на пространственную память, что связано со снижением холинергической передачи, гибелью нейронов, гиперфосфорилированием и нерастворимостью тау-белка, изменениями цитоскелета нейронов, появлением  $\beta$ -амилоидных бляшек и нарушением синаптической пластичности в коре головного мозга (Capsoni et al., 2011).

Тем не менее, несмотря на многообразие трансгенных моделей гены (и конкретные мутации в них), повышающие риск развития спорадической формы БА, на которую приходится около 90% случаев, пока окончательно не выявлены (Reitz et al., 2020). В связи с этим для тестирования потенциальных терапевтических средств используются фармакологические модели, включающие введение токсических веществ.

Первая группа моделей этой категории основана на холинергической гипотезе БА, согласно которой потеря холинергической функции мозга вносит

значительный вклад в нейродегенерацию (Bartus, 2000). Для создания моделей холинергического дефицита применялись интрапаренхиматозные или интрацеребровентрикулярные инъекции аналогов глутамата (хинолиновая, каиновая, иботеновая, квискваловая и N-метил-D-аспарагиновая кислоты) и холинотоксинов (AF64A, скополамин, атропин) (Benedikz et al., 2009). Использование аналогов глутамата основано на явлении эксайтотоксичности (чрезмерной активации глутаматных рецепторов, вызывающей гибель клеток). Однако эти модели не нашли широкого применения ввиду низкой специфичности из-за повсеместного распространения глутаматных нейронов в мозге (Rodríguez et al., 2009). Среди холинотоксинов наибольшее распространение нашла модель с использованием блокатора м-холинорецепторов скополамина. Скополамин – тропановый алкалоид, встречающийся в природе в таких ядовитых паслёновых как дурман и белена. Скополаминовая модель была использована во множестве исследований потенциальных терапевтических агентов для лечения БА (Chen et al., 2020). Скополамин может вызывать атрофию и дегенерацию нейронов, а также накопление A $\beta$  в головном мозге крыс. Так введение скополамина (2 мг/кг/день, внутривентрикулярно) в течение 6 недель повышало уровни белка A $\beta$  (в 2,4 раза) и экспрессию мРНК APP (в 2,7 раза) у самцов крыс Wistar (Safar et al., 2016). Скополамин повышал уровень фосфорилированного тау-белка (в 2 раза), увеличивал активность регулирующей аффинность микротрубочек киназы 2 и повышение экспрессии киназы гликогенсинтазы 3 $\beta$  – ферментов, участвующих в гиперфосфорилировании тау (Tang, 2019). Известно и действие скополамина на холинергическую систему. При внутривентрикулярном введении в дозах 1-2 мг/кг он вызывает гибель холинергических нейронов в гиппокампе, снижение уровня АЦХ и холин-ацетилтрансферазы, а также повышение активности АХЭ (More et al., 2016). Скополамин вызывает окислительный стресс, о чем свидетельствует резкое повышение уровня продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) (Rajashri et al., 2020). Кроме того, уменьшается уровень антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы и восстановленного глутатиона за счет снижения уровня экспрессии

белка Nrf2 (транскрипционный фактор, который активирует пути эндогенной антиоксидантной защиты) (Venkatesan et al., 2016). Как следствие этого возникает накопление активных форм кислорода, повреждение митохондрий и апоптоз. Скополамин стимулирует нейровоспаление, свойственное пациентам с БА. Он повышает уровень провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4 и TNF- $\alpha$  и iNOS, которая способствует высокому уровню продукции NO во время воспалительных процессов после индукции провоспалительными цитокинами, также может стимулировать апоптоз и окислительное повреждение в нейронах (Venkatesan et al., 2016). Показано, что скополамин уменьшает содержание нейротрофинов в мозге. Соединение снижает уровень NGF в гиппокампе на 38% (Safar et al., 2016), подавляет путь CREB-BDNF (снижение BDNF, фосфорилированного CREB и его мРНК в гиппокампе и коре головного мозга) (Abuelezz et al., 2023). Системное введение скополамина вызывает когнитивный дефицит в различных поведенческих тестах (радиальный лабиринт, водный лабиринт Морриса, тест пассивного избегания) (More et al., 2016). Таким образом, скополамин вызывает ряд патологических изменений, сходных с таковыми у пациентов с БА и является хорошим фармакологическим инструментом для выявления терапевтических агентов.

К фармакологическим моделям относится и модель токсичности, вызванной введением алюминия (Al $^{3+}$ ). Уровень этого металла значительно повышен в мозге людей, страдающих от БА. Молекулярные механизмы, связанные с нейротоксическим действием Al $^{3+}$  при БА, до конца не изучены. Исследования *in vitro* показали, что алюминий в низких концентрациях вызывает агрегацию тау-белка, изменяет нормальный процессинг белка-предшественника A $\beta$  и стимулирует амилоидогенез (Fargoqui, 2016). Так хроническое внутрижелудочное (в/ж) введение глюконата алюминия (Al $^{3+}$  200 мг/кг в сутки) приводит к значительному повышению уровня ионов металлов в гиппокампе (Al, Fe, Mn, Cu и Zn) и вызывает нарушение функций обучения и памяти у крыс (Yu et al., 2014). Показано, что алюминий вызывает холинергическую дисфункцию, усиливая

деградацию и снижая синтез АЦХ. Он также препятствует связыванию АЦХ с его мускариновыми и никотиновыми рецепторами (Dey et al., 2022).

Один из популярных подходов к моделированию БА предполагает прямую инъекцию фрагментов Аβ в различные участки мозга. Для этих целей используют короткие фрагменты Аβ<sub>22/25-35</sub>, более длинные Аβ<sub>1-40/42</sub>, а также модифицированные варианты, такие как Аβ<sub>25-35</sub>(Phe(SO<sub>3</sub>H)<sub>24</sub>)<sub>25-35</sub> (Колобов и др., 2014). Преимуществом коротких фрагментов является то, что они хорошо растворимы и их можно вводить не используя токсичные растворители (Canet et al., 2023). Инъекции производят в основном в три области –желудочки мозга, гиппокамп и ядра Мейнерта. При введении в желудочки отмечается генерализованная патология, так как фрагменты попадают в спинномозговую жидкость и разносятся по различным участкам ЦНС. Происходят как биохимические изменения (окислительный стресс, нейровоспаление, отложение Аβ), так и когнитивные, при больше всего повреждается рабочая память (по данным тестов в Y-лабиринт и модифицированный лабиринт Морриса (Ding et al., 2013; Stepanichev et al., 2004)). Так как многие эксперименты по изучению токсичности Аβ *ex vivo* проводились на срезах гиппокампа, были предприняты попытки инъекции фрагментов именно в эту структуру мозга. Однако степень нейродегенерации не была настолько выражена, поэтому введение в гиппокамп часто сочетают с другими токсическими агентами, вызывающими глутаматную эксайтотоксичности, провоспалительными агентами или холинотксинами (Nakamura et al., 2006). Как и в случае с инъекцией в желудочки, у животных наблюдались нарушения памяти (Hruska et al., 2007). Холинергические нейроны базальных ядер переднего мозга одними из первых страдают при БА. В связи с эти широкое распространение получила модель инъекции Аβ в базальные гигантоклеточные ядра Мейнерта. Для этой модели установлены патологические изменения в нейронах фронтальной коры и гиппокампа, а также нарушения памяти в Y- лабиринте, тесте пассивного избегания и тесте распознавания нового объекта (Harkany et al., 1998; Ostrovskaya et al., 2008). Проблемой вышеперечисленных

моделей является быстрый гидролиз фрагментов А $\beta$  в ткани мозга. Кроме того, стоит вопрос контрольного воздействия.

Еще одна распространенная модель БА заключается во внутрижелудочковом введении стрептозотоцина (STZ). STZ – это производное нитрозомочевины, связанное в C2 положении с D-глюкозой, полученное из *Streptomyces achromogenes*. Изначально он разрабатывался как антибиотик, затем как противораковое средство (Grieb, 2016). STZ токсичен для бета-клеток поджелудочной железы и почти 50 лет его внутривенное или внутрибрюшинное введение в дозах от 40-60 мг/кг используется для моделирования диабета 1 типа (Goyal et al., 2016). Внутрижелудочковая (ICV) инъекция в субдиабетогенной дозе 3 мг/кг для моделирования нарушений обучения и памяти, свойственных для БА, была предложена в 1998 году (Lannert et al., 1998). STZ похож по структуре на глюкозу и транспортируется в клетку глюкозным транспортером GLUT2, но не распознается другими переносчиками глюкозы, такими как GLUT1, GLUT3 или GLUT4 (Kamat et al., 2016). STZ обладает алкилирующей активностью, он токсичен для клеток, поскольку образует ионы карбония (CH $_3^+$ ), которые вызывают повреждение ДНК путем метилирования (Szkudelski, 2001). STZ увеличивает генерацию активных форм кислорода и активных форм азота, вызывая в клетках мозга окислительный стресс. STZ-опосредованный окислительный стресс обычно увеличивает уровни малонового диальдегида (MDA), TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  и GFAP, а также снижает уровень глутатиона (GSH) в головном мозге (Rai et al., 2014). ICV инъекция STZ приводит к снижению экспрессии инсулина, IR, IGF-1 и IGFR (особенно в гиппокампе и фронтальной коре) сходно с таковым у пациентов с БА. Так как инсулин защищает от окислительного стресса, снижает гиперфосфорилирование тау, а также стимулирует перенос APP к мембране и внеклеточное высвобождение  $\beta$ -амилоида, дисфункция инсулиновой системы вносит вклад в формирование STZ-опосредованной патологии (Kamat et al., 2016). STZ также подавляет активность PI3K/АКТ сигнального пути, что в свою очередь приводит к увеличению активности GSK-3 $\beta$  и гиперфосфорилированию тау белка (Curtis et al., 2021). На стрептозотоциновой модели наблюдается и амилоидная

патология, причем A $\beta$  отмечены и в гиппокампе (Wang et al., 2017) и в стенках малых артерий и капилляров головного мозга (церебральная амилоидная ангиопатия, встречается как самостоятельное заболевание, но часто сочетается с БА) (Salkovic-Petrisic et al., 2011). STZ стимулирует экспрессию APP, BACE-1 в астроцитах, что также обнаруживается в мозге пациентов со спорадической формой БА (Rajasekar et al., 2014). Кроме того, в мозгу крыс, подвергшихся воздействию стрептозотоцина, была обнаружена повышенная активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) (More et al., 2016). Для модели также характерны когнитивные нарушения, выявленные в различных поведенческих тестах, направленных на оценку памяти – тесте пассивного избегания, водном лабиринте Морриса и тесте распознавания нового объекта (Chen et al., 2013b; İpek Konaklı, 2021). Внутрижелудочковая инъекция STZ является надежной моделью БА на грызунах, поскольку воспроизводит патологические механизмы, наблюдаемые у пациентов. В первую очередь дисфункция происходит в передаче сигналов инсулина, что приводит к гипометаболизму глюкозы, соответствующему ранним стадиям заболевания. Проявляются и другие признаки БА, такие как нейровоспаление, окислительный стресс и холинергический дефицит (Wan Chik et al., 2023).

Таким образом, большинство моделей БА основаны на генетических мутациях и предоставляют ценную информацию о роли патологий A $\beta$  и тау, но не отражают патологию преобладающей спорадической БА. Фармакологические модели являются полезным инструментом для поиска и исследования потенциальных препаратов для лечения БА и обладают следующими преимуществами: 1) патологические изменения в головном мозге могут быть инициированы в любом возрасте ранее интактных животных, 2) начало, развитие и прогрессирование последующего когнитивного дефицита и связанных с ним биохимических и структурных изменений можно проследить с самого момента повреждения головного мозга, что дает возможность оценить терапевтический потенциал препарата в отношении профилактики заболевания при введении до или



параллельно с инъекцией токсина, а также модификацию и прогрессирование заболевания при введении после проявления когнитивных нарушений.

## 1.4. ФОКАЛЬНЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ

Модели с использованием срезов мозга обладают уникальными преимуществами. Они в значительной степени сохраняют тканевую архитектуру и активность нейронов с функциональными синаптическими контактами. Наиболее часто используемым объектом являются срезы гиппокампа. Их также широко используют в исследованиях БА, так как гиппокамп играет центральную роль в обучении и запоминании, и патологии, затрагивающие гиппокамп, вносят существенный вклад в когнитивный дефицит, проявляющийся у пациентов с БА (Cho et al., 2007).

### 1.4.1. Морфология гиппокампа

Гиппокамп – парная структура головного мозга, он находится в глубине больших полушарий и входит в состав височной доли. Вместе с обонятельной корой он относится к старой (палеокортекс) или, по другой классификации, к древней коре (архикортекс). Гиппокамп тянется вдоль медиальных стенок нижних рогов боковых желудочков мозга в переднезаднем направлении, изгибаясь в форме бараньего рога. Длинная ось гиппокампа носит название дорсо-вентральной. Левый и правый гиппокамп связаны между собой комиссуральными нервными волокнами (Von et al., 2018). Гиппокамп входит в гиппокамповую формацию, включающую, собственно гиппокамп (или Аммонов рог), зубчатую извилину, субикулум, пресубикулум и энторинальную кору (Neznanov et al., 2019).

Подробное описание нейронов гиппокампа и его цитоархитектоники было дано в работах Лоренте де Но (Lorente De Nó, 1934) и Кахаля (Cajal, 1955). Основными клетками гиппокампа являются пирамидные нейроны и полиморфные клетки. Гиппокамп состоит из 3 слоев: полиморфного (краевого) слоя (*stratum oriens*), пирамидного слоя (*stratum pyramidale*) и молекулярного слоя (*stratum radiatum*) (Neznanov et al., 2019). По морфологическим критериям гиппокамп был разделен на четыре поля CA1, CA2, CA3 и CA4 (название происходит от аббревиатуры Аммонов рог – *Cornu ammonis*), основными из них считаются поля CA1 и CA3 (Winterburn et al., 2013).

В гиппокампе существует два основных пути – моносинаптический и трехсинаптический. В последнем афферентная иннервация идет от энторинальной коры и передается зернистым нейронам зубчатой извилины через перфорантный путь (перфорирует субикулум). Аксоны этих нейронов образуют мшистые волокна и формируют синапсы с дендритами пирамидных нейронов СА3. Затем аксоны СА3 (коллатерали Шаффера) передают импульсы далее в поля в СА1 и СА2. Аксоны пирамидального слоя СА1 через субикулум формируют обратную эфферентную связь с энторинальной корой. Моносинаптическая цепь передает информацию напрямую из энторинальной коры на пирамидные нейроны СА1 (Bon et al., 2018).

#### **1.4.2. Вызванная активность**

Благодаря высокой геометрической упорядоченности гиппокампа возможна регистрация и интерпретация фокальных (популяционных) потенциалов в области зубчатой извилины и поля СА1, возникающих при раздражении перфорантного пути и коллатералей Шаффера, соответственно. Электрические поля, возникающие в результате такой стимуляции, сходны по своим силовым параметрам и имеют одну направленность.

При регистрации ответа из слоя тел пирамидных клеток можно увидеть позитивный фокальный ВПСП (фВПСП) от дендритов и фокальный потенциал действия (фПД) противоположной полярности. При регистрации ответа дендритов радиального – негативный фПД от аксонов коллатерали Шаффера и больший по амплитуде, чем в пирамидном слое, фВПСП позитивной направленности. Показатели фПД и фПД (амплитуда, угол наклона, длительность) используются в исследованиях для оценки параметров синаптической передачи. Метод регистрации вызванных ответов является важным инструментом для изучения электрической активности нейронов в нормальных условиях и при патологиях (Рогозин, 2020).

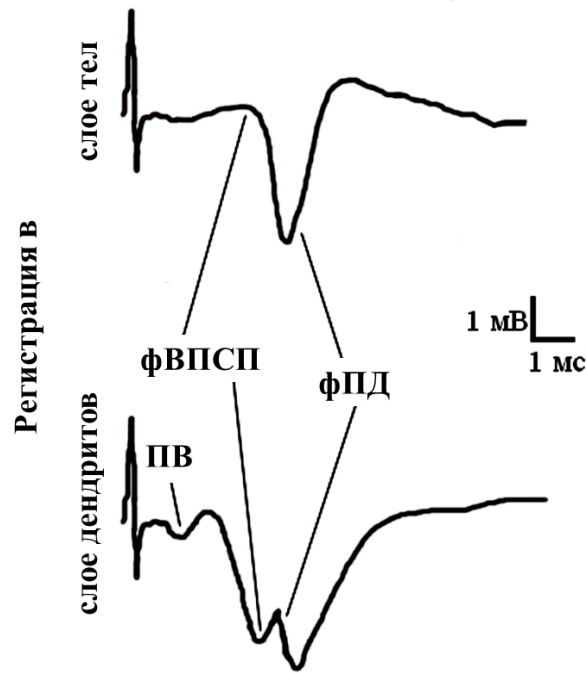


Рисунок 9. Вызванная активность поля СА 1 гиппокампа при стимуляции коллатерали Шаффера. фВПСП – фокальный возбуждающий постсинаптический потенциал, ПВ – потенциал аксонов коллатерали Шаффера, фПД – фокальный потенциал действия.

### 1.4.3. Синаптическая пластичность

Синаптическая пластичность – изменение эффективности синаптической передачи в синапсах в результате их активности. Такие изменения могут носить кратковременный характер (минуту) и более долговременный характер (часы, дни) (Monday et al., 2018). Пластичность — это универсальное свойство синапсов, необходимое для функционирования нервной системы. В 1949 году Дональдом Хеббом была предложена теория, что синаптические связи, многократно или постоянно участвующие в возбуждении постсинаптического нейрона, увеличивают свою силу. В дальнейшем «правило Хебба» было распространено и на депрессию: синапсы, которые постоянно не принимают участия в возбуждении постсинаптических нейронов, уменьшают свою силу (Chistiakova et al., 2014). После открытия клеточной основы памяти, долговременной потенциации (LTP) в формации гиппокампа (Bliss et al., 1973), теория была дополнена также правилами

кооперативности и входной специфичности (Bliss et al., 1993). Первое утверждает, что активация должна быть сильной, превышающей определенный порог, чтобы вызвать пластические изменения. Второе – изменения происходят только в тех синапсах, которые были активированы во время индукции, но не в других синапсах (Bliss et al., 1993). Такая пластичность носит название гомосинаптической она возникает в синапсах, которые непосредственно участвуют в активации клетки во время индукции. Индукция гомосинаптической пластичности синапса требует его пресинаптической активации (Chistiakova et al., 2014).

Другой тип пластичности – гетеросинаптическая. Она может быть вызвана в синапсах, которые не были активны во время индукции. Сигналы между синапсами могут передаваться за счет молекулярных взаимодействий (Chater et al., 2021). Стимуляция синапсов-мишеней активирует множество синаптических белков, способствуя их диффузии из дендритов. Например, малая ГТФаза Ras диффундирует на расстояние до 10 мкм, воздействуя на другие шипики, снижая порог для последующих потенциации (Harvey et al., 2008). Сходным образом, диффузия ГТФаз семейства Rho (Rac1, Cdc42, RhoA), которые являются ключевыми регуляторами актинового цитоскелета в дендритных шипиках, облегчает sLTP в близлежащих шипиках, причем для этого процесса необходима передача сигнала BDNF-TrkB (Hedrick et al., 2016). Тем не менее гетеросинаптическая пластичность и ее механизмы требуют дополнительного изучения.

Благодаря своим преимуществам (хорошей выживаемости при сохранении citoархитектоники) переживающие срезы гиппокампа могут быть использованы для оценки влияния фармакологических агентов на формирование LTP и эффективность синаптической передачи, что может дать представление о молекулярных механизмах формирования памяти, а также позволит оценить терапевтический потенциал препаратов, направленных на улучшение когнитивных функций.

## 1.5. ФАКТОР РОСТА НЕРВОВ

Фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) – первый идентифицированный представитель семейства нейротрофинов (NT). Это группа белков нервной ткани, участвующих в пролиферации, дифференцировке и поддержании жизнеспособности и функционирования периферических и центральных нейронов (Bohmwald et al., 2022). Кроме вышеперечисленного NGF участвует в регуляции функционального состояния клеток эндокринной и иммунной систем, а также клеток некоторых других систем и органов (Aloe et al., 2012).

NGF впервые был идентифицирован в 1950-х годах Р. Леви-Монтальчини сначала в опухолевой ткани, а затем в ткани слюнной железы мыши (Aloe, 2021) как молекула, стимулирующая рост и выживание периферических сенсорных и симпатических нервных клеток млекопитающих (Levi-Montalcini et al., 1951). В 1986 году ей и С. Коэну за это открытие была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине. Позднее были описаны и другие белки семейства NT. Для млекопитающих это – мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), нейротрофин 3 (NT-3) и нейротрофин-4, известный также как нейротрофин-5 (NT-4, или NT4/5) (Ceni et al., 2014). Кроме них также идентифицированы нейротрофин-6/7 (NT-6/7) – выделен из *Nothobranchius furzeri*, lamprey neurotrophin (Lf-NT) – из *Lampetra fluviatilis*, hagfish neurotrophin (Mg-NT) – из *Myxine glutinosa* (Kakizawa, 2021).

### 1.5.1. Структура NGF

Трехмерная структура NGF была определена с помощью метода рентгеновской кристаллографии в 1991 году (McDonald et al., 1991).

Мономер NGF – полипептид с молекулярной массой 13кДа и состоит из 118 аминокислотных остатков (Niewiadomska et al., 2011). Зрелый функционально активный NGF ( $\beta$ NGF) представляет собой гомодимер 2,5S с молекулярной массой 26 кДа. Он образован двумя мономерами мономерами, связанными нековалентными гидрофобными взаимодействиями (рис. 2) (Ibáñez, 1998).

NGF может быть выделен также в форме 7S. 7S NGF представляет собой комплекс 3 полипептидных цепей –  $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ , где  $\beta$ NGF – собственно активный нейротрофин, а  $\alpha$ -субъединица – неактивный калликреин, а  $\gamma$ -субъединица – аргининэстераза или калликреин (Вах et al., 1997; Shooter, 2001).  $\alpha$ -Субъединица, соответственно, неактивна, а  $\gamma$ -субъединица осуществляет процессинг proNGF (Sofroniew et al., 2001).

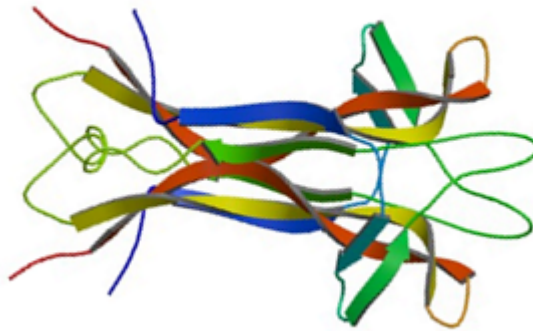


Рисунок 2. Структура димера 2,5S NGF – собственно NGF. PDB:1BET (<https://www.rcsb.org/structure/1BET>)

### 1.5.2. Рецепторы

NGF взаимодействует с двумя видами трансмембранных рецепторов: высокоаффинными тирозинкиназными TrkA рецепторами (tropomyosin-related kinase A) (рис. 3) и низкоаффинными  $p75^{\text{NTR}}$  рецепторами (75kDa pan neurotrophin receptor), из семейства рецепторов фактора некроза опухоли.

NGF реализует свои эффекты посредством аутокринной, паракринной и эндокринной регуляции (Niewiadowska et al., 2011).

TrkA – специфический для NGF рецептор, кодируемый геном NTRK1 (Greco et al., 1996). NGF в димерной форме связывается с внеклеточным Ig-C2 доменом (Marlin et al., 2015). Это, в свою очередь, ведет к димеризации самого рецептора и его конформационным изменениям. Впоследствии тирозиновые остатки цитоплазматических доменов рецептора аутофосфорилируются (Adjei et al., 2005). Комплекс NGF/TrkA активирует три внутриклеточных каскада, при этом

фосфорилированный остаток тирозина Y490 рекрутирует адаптеры Shc или Frs2 для активации путей MAPK и PI3K, тогда как фосфорилированный Y785 рекрутирует PLC- $\gamma$ 1 (Ng et al., 2006).

Каскад MAPK/ERK (центральные ферменты – ГТФаза Ras, митоген-активируемая протеинкиназа). Путь ведет к активации транскрипционных факторов CREB, Elk-1 и MEF2. Регуляция экспрессии генов-мишеней этих факторов способствует росту и дифференцировке нейронов (Yang et al., 2011). Также этот каскад связан с нейропротекцией, а в патологических условиях может способствовать нейродегенерации (Albert-Gascó et al., 2020).

Каскад PI3/Akt (центральные ферменты - фосфатидилинозитол-3-киназа и Akt киназа). PI3/Akt-путь играет важную роль в поддержании жизнеспособности клеток за счет ингибирования белков, способствующих апоптозу, таких как Bad и GSK3  $\beta$  (Reichardt, 2006b). Каскад активирует протеинкиназу mTOR, вовлеченную в формирование долговременной памяти (Hoeffler et al., 2010).

Каскад PLC- $\gamma$ 1 (центральный фермент - фосфолипаза C- $\gamma$ 1). Каскад PLC- $\gamma$ 1 регулирует синаптическую пластичность, способствует росту аксонов и клеточной дифференцировке. Активация каскада PLC- $\gamma$ 1 индуцирует экспрессию целевых генов, таких как ген натриевого канала PN1 (Choi et al., 2001).

Стоит отметить способность комплекса NGF/TrkA интернализироваться либо классическим клатрин-опосредованным эндоцитозом, либо пинчер-опосредованным макропиноцитозом (Marlin et al., 2015) и образовывать сигнальную эндосому, которая с помощью ретроградного транспорта по аксону достигает тела нейрона (Niewiadomska et al., 2011).

p75<sup>NTR</sup>-рецепторы – низкоаффинные рецепторы NGF, которые могут взаимодействовать с любыми известными нейротрофинами и их белками-предшественниками (proNT). Комплекс p75<sup>NTR</sup>-рецептора и сортилинового рецептора связывает proNGF с высокой степенью аффинности, при этом активируется сигнальный каскад, ведущий к апоптозу (Paiardini et al., 2008). p75<sup>NTR</sup>-рецептор также способен образовывать комплекс с Trk-рецепторами (Wehrman et al., 2007), однако неясно, формируется ли этот комплекс как



устойчивая или переходная структура. Причем в комплексе P75<sup>NTR</sup>-рецепторы могут как усиливать опосредуемые Trk функции, так и стимулировать апоптоз (Eibl et al., 2012).

P75<sup>NTR</sup>-рецепторы при взаимодействии с NGF изменяют свою конформацию, что ведет к активации трех внутриклеточных каскадов:

Каскад NF-κB (Nuclear Factor kappa B). Этот транскрипционный фактор индуцирует гены, способствующие выживанию клетки, в том числе члены семейства ингибиторов апоптоза, IAP и гомологи Bcl-2. Таким образом, этот каскад ведет к ингибированию апоптоза (Mattson et al., 2000).

Каскад JNK (c-Jun-N-terminal kinase). Мишенями этой киназы являются факторы транскрипции c-jun, ATF-2 и p53, активация которых стимулирует апоптоз (Longo et al., 2013).

Сфингомиелиназо-церамидный каскад. Церамид может ингибировать MAP-киназный сигнальный каскад, а также способен активировать JNK-каскад (Niewiadomska et al., 2011).

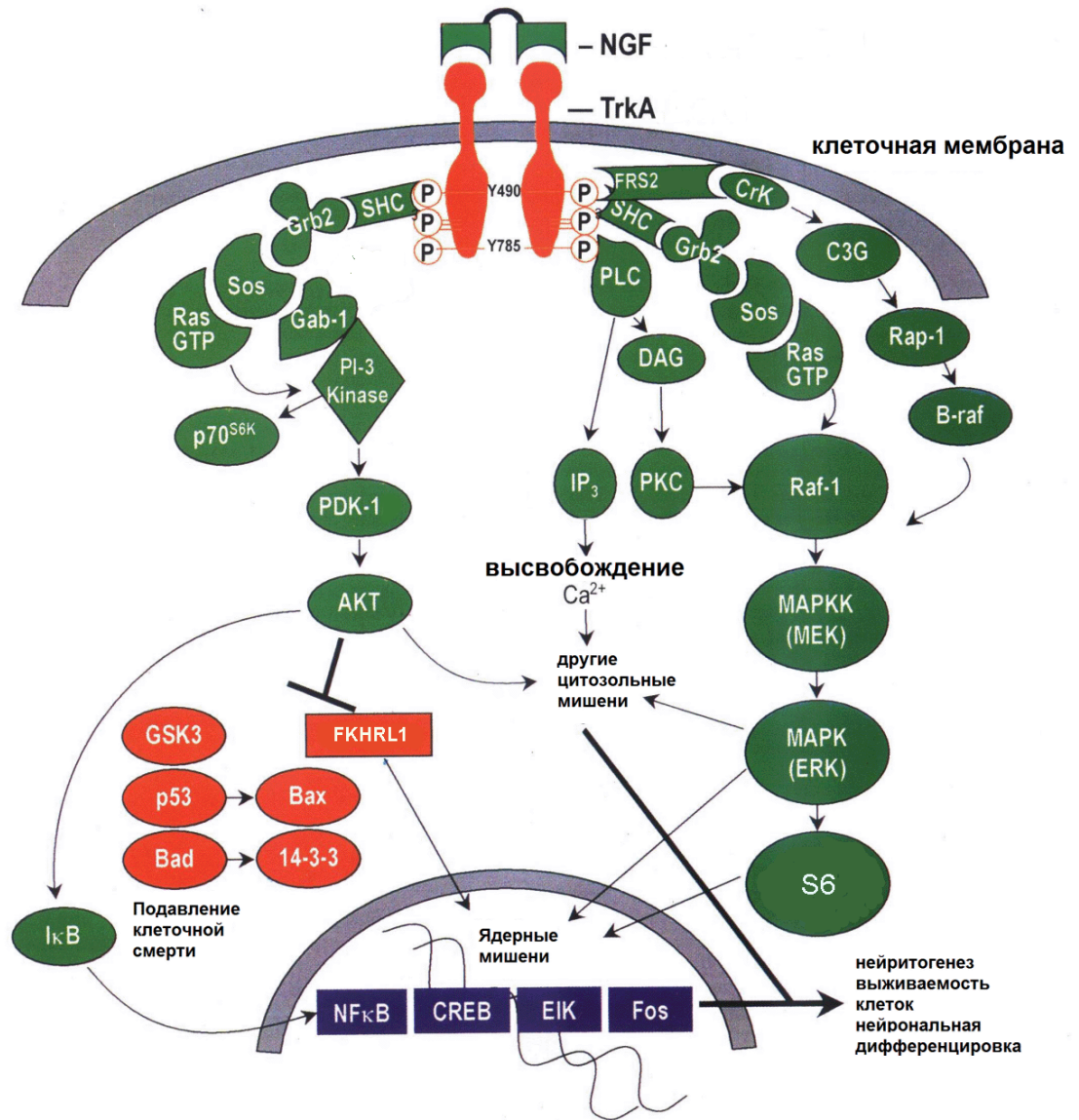


Рисунок 3. NGF/TrkA-сигналинг. Y490 – тирозиновый остаток цитоплазматического домена рецептора TrkA, который участвует в связывании с адаптерными белками Shc, Frs2, Grb2 и GAB1. Фактор обмена нуклеотидов Sos активирует ГТФазу Ras и может участвовать в активации PI3K. Ras активирует серин/протеинкиназу Raf, фосфорилирующую MAPK-киназу MEK, MEK фосфорилирует MAP-киназу Erk, что приводит к активации транскрипционных факторы CREB, ELK и Fos, которые отвечают за дифференцировку клеток и их выживание. S6 – рибосомная киназа, которая также активируется Erk и фосфорилирует транскрипционные факторы. PI3-киназа активируется белком Ras или с помощью адапторных белков Shc, Grb2 и GAB1. Фосфорилированная форма PI3K фосфорилирует Akt-киназу с помощью киназы PDK1. Akt в свою очередь

инактивирует проапоптотические белки GSK-3 $\beta$ , BAD, а также транскрипционные факторы p53 и FKHL1, стимулирующие экспрессию проапоптотических генов. Akt-киназа инактивирует I $\kappa$ B, который ингибирует транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B стимулирует экспрессию генов, способствующих поддержанию жизнеспособности клеток. Y785 – участвует в связывании с фосфолипазой C- $\gamma$ 1 (PLC- $\gamma$ 1). PLC- $\gamma$ 1 – это фермент, который гидролизует фосфоинозитиды клеточной мембраны до инозитолтрифосфата (IP3) и диацилглицерола (DAG). IP3 активирует высвобождение кальция из внутриклеточного депо в цитоплазму, а DAG активирует протеинкиназу C (PKC), активирующую транскрипционные факторы, стимулирующих экспрессию генов, вовлеченных в клеточную дифференцировку и рост аксонов. (Поварнина, 2013)

### **1.5.3. NGF в патогенезе болезни Альцгеймера**

Большое количество литературных данных указывает на вовлеченность NGF в БА (Ciafrè et al., 2020; Mufson et al., 2019; Pentz et al., 2021b). При БА одними из первых повреждаются базальные холинергические нейроны переднего мозга. Они чрезвычайно важны для обучения, памяти и внимания. Дегенерация этих нейронов коррелирует со степенью выраженности деменции при БА (Schmitz et al., 2016). NGF способствует выживанию и дифференцировке базальных холинергических нейронов переднего мозга *in vitro* и *in vivo*. NGF стимулирует синтез и выделение АЦХ, а также экспрессию ХАТ и везикулярного транспортера АЦХ – VACHT, уровень которых снижен при БА. NGF также увеличивает экспрессию собственного рецептора TrkA в базальных холинергических нейронах (Fahnestock et al., 2019). Сами базальные холинергические нейроны не продуцируют NGF, поэтому он поступает за счет ретроградного транспорта сигнального комплекса NGF/TrkA из коры и гиппокампа (Mufson et al., 1999). Известно, что NGF защищает холинергические нейроны при возрастной атрофии и экспериментальных хирургических повреждениях, способствует улучшению памяти у пожилых грызунов (Carsoni et al., 2006). Так AD11 anti-NGF мыши, вырабатывающие антитела против NGF, характеризуются прогрессирующей нейродегенерацией,

напоминающей таковую при БА. У мышей этой линии депривация NGF приводила к прогрессирующей атрофии холинергических нейронов, накоплению фосфорилированного тау белка в коре и гиппокампе, отложению A $\beta$  вследствие патологического процессинга APP, а также нарушению пространственной и рабочей памяти в поведенческих тестах (Carsoni et al., 2000).

Поскольку выживание и функционирование холинергических нейронов зависит от NGF, было высказано предположение о снижении его уровня у пациентов с БА (Du et al., 2018b). Результаты *post mortem* исследования мозга пациентов с БА показали, что содержание зрелого NGF снижается в холинергических нейронах базальных отделов переднего мозга. Однако, в коре и гиппокампе содержание NGF увеличивается (Mufson et al., 1995; Scott et al., 1995). При этом содержание мРНК NGF не изменяется (Fahnestock et al., 1996). Это свидетельствует о том, что происходит нарушение транспорта NGF из мест его синтеза в холинергические нейроны (Cattaneo et al., 2008).

В ткани головного мозга пациентов с БА отмечалось увеличение proNGF в коре и гиппокампе и снижение в базальных отделах переднего мозга, что может быть связано с нарушением ретроградного транспорта, так как снижается экспрессия необходимых для него TrkA-рецепторов. (Fahnestock et al., 2001). Накопление proNGF также может быть вызвано дефектами процессинга. В нормальных условиях зрелый NGF образуется из proNGF с помощью плазмина, который сам образуется из плазминогена с помощью тканевого активатора плазминогена (tPA). Активность tPA контролируется нейросерпином, его эндогенным ингибитором. Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9) и MMP-3 разрушают NGF, они регулируются тканевым ингибитором металлопротеиназ 1 (TIMP1). В патологических условиях БА содержание нейросерпина увеличивается, а tPA – снижается, что приводит к снижению концентрации плазмина, уменьшая процессинг proNGF. Снижение TIMP1 и повышение MMP-3 и MMP-9 приводят к чрезмерной деградации зрелого NGF (Pentz et al., 2021a). Связывание proNGF с комплексом p75<sup>NTR</sup>/сортилин вызывает апоптоз нервных клеток (Wehrman et al., 2007). Известно, что A $\beta$  также может связываться с p75<sup>NTR</sup>. Экспрессия p75<sup>NTR</sup> в

мозге трансгенных мышей APP<sup>sw</sup> была увеличена, что может свидетельствовать о вовлеченности A $\beta$  в регуляцию сверхэкспрессии p75<sup>NTR</sup> при БА (Xu et al., 2016).

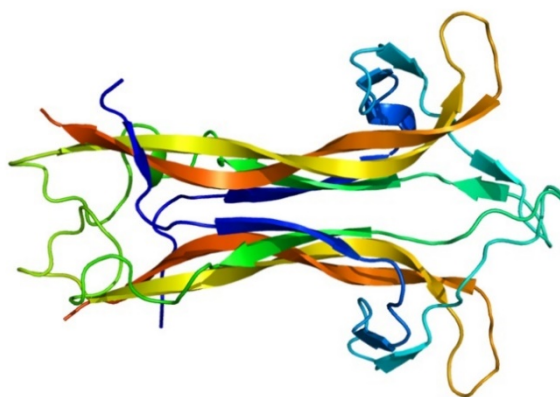
Терапия на основе NGF видится многообещающим направлением развития способов лечения БА. Исследования показали, что введение в NGF в желудочки мозга предотвращает дегенерацию холинергических нейронов (Hefti, 1986), а также препятствует атрофии нейронов и улучшает пространственную память у старых крыс (Fischer et al., 1987). Имплантация аутологичных фибробластов, генетически модифицированных для экспрессии NGF пациентам с БА замедлила снижение когнитивных функций (Tuszynski et al., 2005). Также проводятся исследования доставки NGF с помощью аденоассоциированного вируса (AAV) – наиболее широко используемого вектора для генной терапии в клинических испытаниях. Однако применение нативного NGF требует дальнейших исследований в связи с вероятностью развития побочных эффектов, обусловленных плейотропностью действия (Castle et al., 2020; Rafii et al., 2014; Rafii et al., 2018).

## 1.6. МОЗГОВОЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР

В 1982 году Varde и Thoenen выделили второй представитель семейства нейротрофинов, а именно мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), из мозга свиньи, и вскоре после этого была расшифрована его биохимическая структура (Varde et al., 1982; Leibrock et al., 1989). BDNF является преобладающим нейротрофином во взрослом мозге (Sasi et al., 2017).

### 1.6.1. Структура BDNF

Молекулярная масса BDNF составляет 13,5 кДа. Белок состоит из 119 негликозилированных аминокислот и кодируется геном *Bdnf*, локализованным у человека в 11-й хромосоме (Egan et al., 2003). BDNF имеет сходную с NGF структуру и около 50% общих аминокислот с NGF, NT-3 и NT-4/5 (рис. 4) (Bathina



et al., 2015).

Рисунок 4. Структура BDNF. PDB:1BND

(<https://www.rcsb.org/structure/1BND>)

### 1.5.2. Рецепторы

BDNF реализует свои эффекты, взаимодействуя с двумя видами рецепторов – высокоаффинными тирозинкиназными TrkB-рецепторами и низкоаффинными p75<sup>NTR</sup> рецепторами (рис. 3) (Rodriguez-Tebar et al., 1988).

TrkB-рецепторы экспрессируются на аксонах, на дендритах и на телах нейронов во многих структурах мозга, включая гиппокамп, кору, стриатум, черную

субстанцию, ядра перегородки, клетки Пуркинью в мозжечке, ствол мозга. Кроме того, TrkB-рецепторы обнаружены на субпопуляции клеток эпендимы, выстилающей желудочки мозга (Yan et al., 1997).

Взаимодействие BDNF с TrkB-рецептором сходно с таковым для NGF/TrkA и приводит к димеризации рецептора, изменению его конформации с последующими аутофосфорилированием тирозиновых остатков цитоплазматического домена рецептора.

Комплекс BDNF/TrkB также активирует три внутриклеточных каскада. Фосфорилированный остаток тирозина Y515 рекрутирует адаптер Shc для активации MAPK и PI3K каскадов, фосфорилированный Y816 рекрутирует PLC- $\gamma$  (Sasi et al., 2017). В основном эти три каскада работают так же, как и ранее было описано для NGF: каскад MAPK/ERK активирует транскрипционные факторы (такие как CREB), вовлеченные в нейропротекцию и дифференцировку клеток. (Kelleher et al., 2004); каскад PI3/Akt активирует трансляцию через каскад, управляющий мишенью рапамицина млекопитающих (mTOR), основным регулятором синтеза белка – этот путь вовлечен в нейропротекцию, нейрогенез и синаптогенез (Licznarski et al., 2018); каскад PLC- $\gamma$ 1 приводит к высвобождению Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо, активации TRPC3/6 кальциевых каналов (Li et al., 2005), регулирует синаптическую пластичность, способствует росту аксонов и клеточной дифференцировке (Binder et al., 2004). Следует отметить, что последний особенно важен для BDNF/TrkB сигналинга в синаптической пластичности в гиппокампе. У мышей с мутацией в сайте связывания PLC $\gamma$  Y816 наблюдается нарушение долговременной потенциации (LTP) в гиппокампе в ответ на BDNF, вероятно, опосредованное снижением активации CaM-киназы и CREB (Arévalo et al., 2006).

Как отмечалось ранее, P75<sup>NTR</sup> рецепторы взаимодействуют со всеми белками семейства нейротрофинов.

### 1.6.3. Эффекты BDNF при болезни Альцгеймера

Известно, что BDNF также вовлечен в патогенез БА (Amidfar et al., 2020; Giuffrida et al., 2018; Iulita et al., 2017). У пациентов с БА было установлено, что экспрессия BDNF и TrkB снижена в гиппокампе и некоторых областях коры – височной, лобной и теменной коре (Tapia-Arancibia et al., 2008). Снижение экспрессии BDNF наблюдается уже на ранней стадии заболевания и коррелирует со степенью когнитивных нарушений у больных (Buchman et al., 2016; Tanila, 2017). На более поздних стадиях отмечалось снижение уровня BDNF и в сыворотке крови. Это может быть связано с тем, что олигомерный A $\beta$ 1-42 снижает фосфорилирование CREB (основного транскрипционного фактора, регулирующего синтез BDNF), и основных транскриптов BDNF, транскриптов IV и V, в модели клеточной линии нейробластомы человека. Исследование мозга больных БА также выявило значительное снижение общего уровня CREB и его фосфорилированной формы P-CREB (Ng et al., 2019). В клетках PC12 A $\beta$  блокировал ядерную транслокацию P-CREB (Tapia-Arancibia et al., 2008). Уровень TrkB-рецептора и мРНК TrkB также был снижен в мозге пациентов с БА, причем экспрессия усеченной формы TrkB.T1, лишенной тирозинкиназного компонента, наоборот была увеличена (Tanila, 2017). A $\beta$  также ингибирует ретроградный аксональный транспорт комплекса BDNF-TrkB за счет подавления убиквитин С-концевой гидролазы L1, фермента важного на этапе интернализации рецептора (Poon et al., 2013). A $\beta$  ингибирует позднюю фазу долговременной потенциации (long-term potentiation, LTP), которая зависит от локального синтеза белка в зубчатой извилине гиппокампа, при этом BDNF стимулирует локальный синтез белков, необходимых для индукции LTP. A $\beta$  также снижает LTP за счет интернализации NMDA-рецепторов, активация которых необходима для индукции LTP; так как экспрессия BDNF регулируется глутаматом, а BDNF стимулирует синтез субъединиц NR1, NR2A и NR2B NMDA-рецепторов, а также их доставку к плазматической мембране, изменения в этом пути также могут способствовать синаптической дисфункции при БА (Caldeira et al., 2007b; Tapia-Arancibia et al., 2008).



В экспериментах *in vitro* на клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y и *in vivo* на трансгенных мышях hTau40 установлено, что гиперфосфорилированный тау-белок способствуют снижению экспрессии BDNF (Rosa et al., 2016). Введение BDNF *in vitro* приводило к быстрому снижению фосфорилирования тау на клетках P19, кроме того, этот эффект нивелировался в присутствии вортманнина, ингибитора PI-3 киназы, что свидетельствует об участии в этом процессе PI3/Akt каскада (Elliott et al., 2005).

В свою очередь, ингибирование BDNF/TrkB с помощью anti-BDNF антител *in vivo* активирует путь JAK2/STAT3, что приводит к увеличению выработки воспалительных цитокинов и усилению фосфорилированию транскрипционного фактора C/EBP $\beta$ , главного регулятора  $\delta$ -секретазы – фермента расщепляющего APP и тау белок и стимулирующего накопление A $\beta$  и формирование НФК (Wang et al., 2019).

Положительные эффекты экзогенного BDNF были выявлены на различных моделях БА. Показано, что BDNF защищает нейроны в условиях  $\beta$ -амилоидной токсичности как *in vitro*, так и *in vivo* (Arancibia et al., 2008). На трансгенных мышях J20 с мутацией 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). Внутригиппокампальное введение BDNF устраняло когнитивные нарушения у крыс в водном лабиринте Морриса, вызванные введением A $\beta$ 1-42 в желудочки мозга (Zhang et al., 2015).

## 1.7. НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИМЕТИКИ НЕЙРОТРОФИНОВ

Несмотря на высокий терапевтический потенциал, применение нативных нейротрофинов в клинике ограничено слабым проникновением белка через гематоэнцефалический барьер и быстрой биодegradацией (Корес et al., 2020). Недостатком генной терапии является ее высокая стоимость, инвазивность, а также вероятность развития побочных эффектов, обусловленных плеiotропностью действия. Рядом исследовательских групп разрабатываются низкомолекулярные миметики NGF и BDNF с улучшенными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами (Gudasheva et al., 2021).

### 1.7.1. Миметики NGF

Первые низкомолекулярные аналоги NGF были получены в 1990 г. в Калифорнийском университете группой Longo. Третичная структура белка была еще не известна и за основу были взяты консервативные гидрофильные участки первичной структуры 28A–38V. Таким образом были синтезированы линейные пептиды, содержащие от 3 до 11 аминокислотных остатков. Однако по данным радиолигандного анализа эти соединения не оказывали влияние на связывание NGF с рецептором (Longo et al., 1990).

После определения трехмерной структуры NGF, в 1995 г. в лаборатории Saragovi в Университете Макгилла были созданы первые циклические мономерные пептидные аналоги  $\beta$ -изгибов NGF. Предположительно циклические миметики должны лучше воспроизводить NGF, чем линейные. Среди сконструированных циклопептидов наибольшим сродством к TrkA-рецепторам обладали миметики 4-й петли NGF (LeSauter et al., 1995).

В 1997 г. Longo и соавт. синтезировали создали мономерные и димерные циклические пептидные миметики отдельных петель NGF. Димерные миметики 1-й петли обладали наиболее выраженной нейротрофической активностью в первичной культуре сенсорных нейронов. Эти соединения взаимодействовали с P75<sup>NTR</sup> рецепторами, но не TrkA (Longo et al., 1997).

На основании *in silico* скрининга был сконструирован ряд непептидных молекул, активирующих P75<sup>NTR</sup> рецепторы. Наиболее активные из них, LM11A-24 и LM11A-31, активируют каскад NF-κB, ассоциированный с нейропротекцией, и не стимулируют апоптоз. Было обнаружено, что LM11A-24 и LM11A-31 предотвращают гибель нейронов и индуцированное Aβ повреждение нейронов и синапсов при концентрациях 10<sup>-7</sup> M *in vitro* (Yang et al., 2008). LM11A-31 (рис. 5) был активен в ряде моделей нейродегенеративных заболеваний при системном введении. Так на AβPP(L/S) мышах со сверхэкспрессией APP соединение предотвращало развитие дефицита памяти в тесте распознавания нового объекта и Y-образном лабиринте и дегенерацию холинергических нейронов, а также нейровоспаление (Nguyen et al., 2014). В модели повреждения головного мозга у крыс LM11A-31 стимулировал нейрогенез в зубчатой извилине гиппокампа, уменьшал дефицит пространственной памяти в водном лабиринте Морриса (Shi et al., 2013). LM11A-31 подавлял возрастную дегенерацию базальных холинергических нейронов переднего мозга у 18-ти месячных мышей (Xie et al., 2019). Соединение также оказалось активным при хроническом введении в течение 2 недель на мышинной модели инсульта, уменьшая нейродегенерацию и воспаление и восстанавливая двигательную активность в тестах. В настоящее время LM11A-31 находится на 2-й фазе клинических испытаний в качестве средства для лечения болезни Альцгеймера (Nguyen et al., 2022).

Одним из наиболее хорошо описанных миметиков NGF является частичный агонист TrkA-рецепторов – непептидное соединение D3 (рис. 5). D3 был синтезирован в 1999 г. в лаборатории Saragovi из фармакофора 5C3 – антитела к сайту связывания NGF TrkA-рецептора. D3 связывается с IgC2 доменом TrkA-рецептора и вызывает димеризацию и аутофосфорилирование рецептора, при этом D3 не взаимодействует с P75<sup>NTR</sup>. Эффективность D3 установлена в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Он способствует выживанию культуры DRG (dorsal root ganglia) нейронов крысы, а также стимулирует пролиферацию на культуре септальных нейронов крысы и DRG (Maliartchouk et al., 2000). На старых 24-х месячных крысах было показано, что при внутримозговом введении D3 оказывает

нейропротективное действие в отношении холинергических нейронов базальных отделов переднего мозга, а также улучшает пространственную память в водном лабиринте Морриса (Bruno et al., 2004). На генетической TgCRND8 мышинной модели БА D3 улучшал когнитивные функции и стимулировал нейрогенез в гиппокампе (Xhima et al., 2022). С другой стороны, у здоровых мышей дикого типа наблюдалось ухудшение кратковременной памяти (Aboukassim et al., 2011). D3 стимулировал секрецию муцина и уменьшал повреждение роговицы на крысиных моделях синдрома сухого глаза и находится на 3 фазе клинических испытаний в качестве препарата для лечения этого заболевания (Josephy-Hernandez et al., 2017).

Агонистами TrkA-рецепторов являются несколько соединений, полученных на основе гамбогиновой кислоты. Подкожные инъекции амида гамбогиновой кислоты привели к активации TrkA-рецепторов и уменьшению гибели нейронов гиппокампа, вызванной каиновой кислотой, у мышей (Jang et al., 2007).

В лаборатории имени Levi-Montalcini в 2008 г. были созданы пептиды NL1L4 (38 а.к.) и L1L4 (17 а.к.), содержащие последовательность 1-й и 4-й петель с или без N-концевым фрагментом нейротрофина, соответственно (рис. 5). Эти соединения вызывали фосфорилирование TrkA на клетках линии PC12 и обладали NGF-подобной дифференцирующей активностью на культуре DRG нейронов куриных эмбрионов. Кроме того, NL1L4 и L1L4 не вызывали активацию TrkB-рецепторов на клетках культуры зернистых нейронов мозжечка крысы. Соединение L1L4 в микромолярных концентрациях вызывало дифференцировку и клеток линии PC12, а при интратекальном введении увеличивало сниженный болевой порог и снижало интенсивность глиоза в спинном мозге на модели периферической нейропатии у крыс (Cirillo et al., 2012). Однако из-за высокой молекулярной массы эти пептиды не лишены проблем полноразмерного белка.

В 2012 г. на факультете химии Флорентийского университета на основе структуры  $\beta$ -изгиба был синтезирован миметик NGF – MT2 (рис. 5). Он взаимодействует с TrkA-рецепторами, идуцируя его фосфорилирование по Y490. *In vitro* в микромолярных концентрациях миметик обладает нейротрофной активностью на клетках линии PC12 и дифференцирующей активностью на

первичной культуре DRG нейронов крысы. На клеточной модели болезни Альцгеймера MT2 противодействует амилоидогенезу и увеличивает жизнеспособность нейронов (Scarpì et al., 2012).

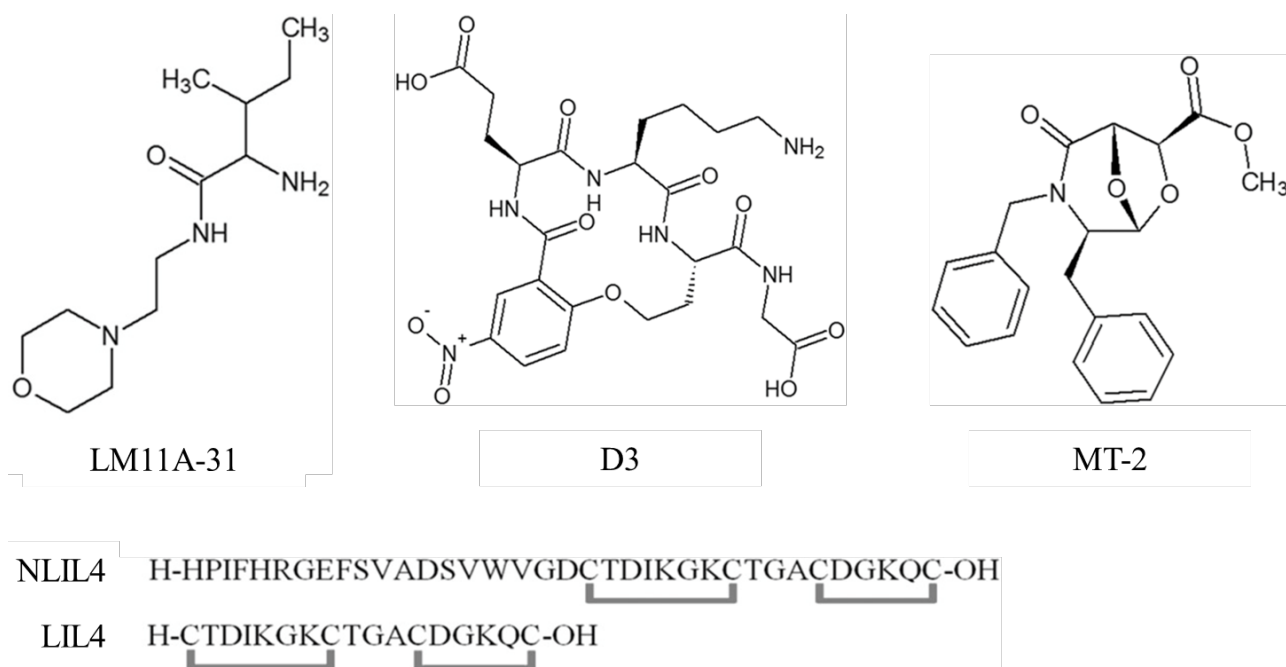


Рисунок 5. Структура миметиков NGF

### 1.7.2. Миметики BDNF

Первые низкомолекулярные миметики BDNF были получены группой Hughes в Мельбурнском университете. Было синтезировано 4 циклических пептидных соединения, содержащих от 6 до 12 аминокислот последовательности 2-й петли BDNF. Соединения ингибировали сенсорных нейронов у куриных эмбрионов, опосредованную BDNF, и оказались специфическими конкурентными антагонистами TrkB (O'Leary et al., 1998). Далее в своей работе авторы сконструировали ди- и трициклические пептидные миметики 2-й петли с агонистической активностью на основе наиболее активного циклопептида L2–8. На первичных культурах сенсорных нейронов куриных эмбрионов соединения под номерами 2, 4, 5 и 6 (рис. 6) показали зависящее от концентрации увеличение выживаемости нейронов. Соединения 5 и 6 были наиболее активными. Все вещества, кроме соединения 3, в зависимости от концентрации ингибировали

эффекты BDNF, являясь его частичными антагонистами-агонистами. Соединение 3 обладало только антагонистическими свойствами (O'Leary et al., 2003). При дальнейших исследованиях учеными из Мельбурнского университета были получены данные, что мономерные моноциклические пептиды и гетеродимерные бициклические пептиды, основанные на петлях 1, 2 и 4, являются антагонистами BDNF, а гомодимерные бициклические пептиды – агонистами (Fletcher et al., 2006).

Исследовательская группа из Института фундаментальных исследований в области нарушений развития штата Нью-Йорк синтезировала пять терапевтически перспективных тетрапептидов В1–В5 (рис. 6), соответствующих последовательностям 6–9, 71–74, 94–97, 72–75, 115–118 человеческого BDNF. Все пептиды вызывали умеренную активацию TrkB-рецепторов. Пептиды В3 и В5 оказались наиболее активными, они увеличивали выживаемость первичных нейронов гиппокампа мыши E18 и вызывали экспрессию нейронных маркеров MAP2, тубулина  $\beta$ -III, NTM и NeuN, аналогично BDNF. Предположительно, эти пептиды являются более перспективными в качестве лекарственных средств, чем соединения группы Hughes, из-за более низкой молекулярной массы и лучшего проникновения через ГЭБ (Cardenas-Aguayo et al., 2013).

Химические соединения на основе пептидомиметиков А, способные активировать TrkB-рецепторы, стимулируют пролиферацию нейронов *in vitro* и индуцируют нейрогенез *in vivo* у мышей и рыб *Danio rerio* (Chakravarty et al., 2015). Еще одним примером природного агониста является дезоксигедунин, полученный из индийского дерева *Azadirachta indica*. Он способствует выживанию культуры гиппокампальных клеток; при внутрибрюшинном введении мышам – проходит через ГЭБ, усиливает консолидацию памяти и обладает антидепрессантными свойствами (Jang et al., 2010). На моделях болезни Паркинсона у мышей: МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин) и 6-OHDA (6-гидроксидофамин)-индуцированной, дезоксигедунин снижал гибель нейронов и улучшал двигательные функции (Nie et al., 2015).

Производное флавоноидов – 7,8-дигидроксифлавонон (7,8-DHF) (рис. 6) является низкомолекулярным (254 Да) агонистом TrkB-рецепторов, связываясь с

сайтом IgC2. Соединение разрабатывается в Университете Эмори как потенциальный антидепрессант (Zhang et al., 2016). 7,8-DHF обладает нейропротективными свойствами в условиях  $A\beta$ -токсичности *in vitro* (Zhang et al., 2014). 7,8-DHF улучшал память у животных в условиях экспериментальной болезни Альцгеймера: у трансгенных 5XFAD мышей со сниженным уровнем  $\beta$ -секретазы (Zhang et al., 2014) и у трансгенных APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> мышей (Bollen et al., 2013). Кроме того, в культуре клеток, лишенных TrkB-рецепторов, 7,8-DHF оказывает защитное действие против окислительного стресса, возможно, из-за его мощных антиоксидантных свойств (Chen et al., 2011). 7,8-DHF защищал клетки на модели болезни Паркинсона индуцированной 6-OHDA (Han et al., 2014). Известны положительные эффекты также на модели болезни Хантингтона, рассеянного склероза синдрома Дауна, шизофрении, ишемического инсульта. Экспериментально установлены антидепрессивные свойства 7,8-DHF. Хроническое внутрибрюшинное введение соединения в дозах 10–20 мг/кг ослабляло агедонию в тесте предпочтения сахарозы, восстанавливало сниженное фосфорилирование TrkB и активировало экспрессию синаптических маркеров PSD95 и синаптофизина в модели хронического стресса у мышей (Zhang et al., 2016).

Лабораторией доктора F.M. Longo в Университете Северной Каролины было синтезировано несколько сходных по химической структуре миметиков BDNF на основе сайта SKGOL 2-й петли под названиями LM22A-1, LM22A-2, LM22A-3 и LM22A-4. Все соединения оказались селективными частичными агонистами TrkB-рецепторов, но наиболее активным оказалось соединение LM22A-4 (рис. 6). *In vitro* оно обладает значительной нейропротекторной активностью на моделях болезни Альцгеймера, синдрома Ретта, болезни Паркинсона и болезни Хантингтона, предотвращая гибель нейронов (Massa, 2006; Massa et al., 2010). *In vivo* было показано, что LM22A-4 на модели церебральной ишемии у мышей (односторонняя окклюзия сонной артерии с последующей гипоксией) значительно улучшал неврологический статус и стимулировал нейрогенез (Han et al., 2012).

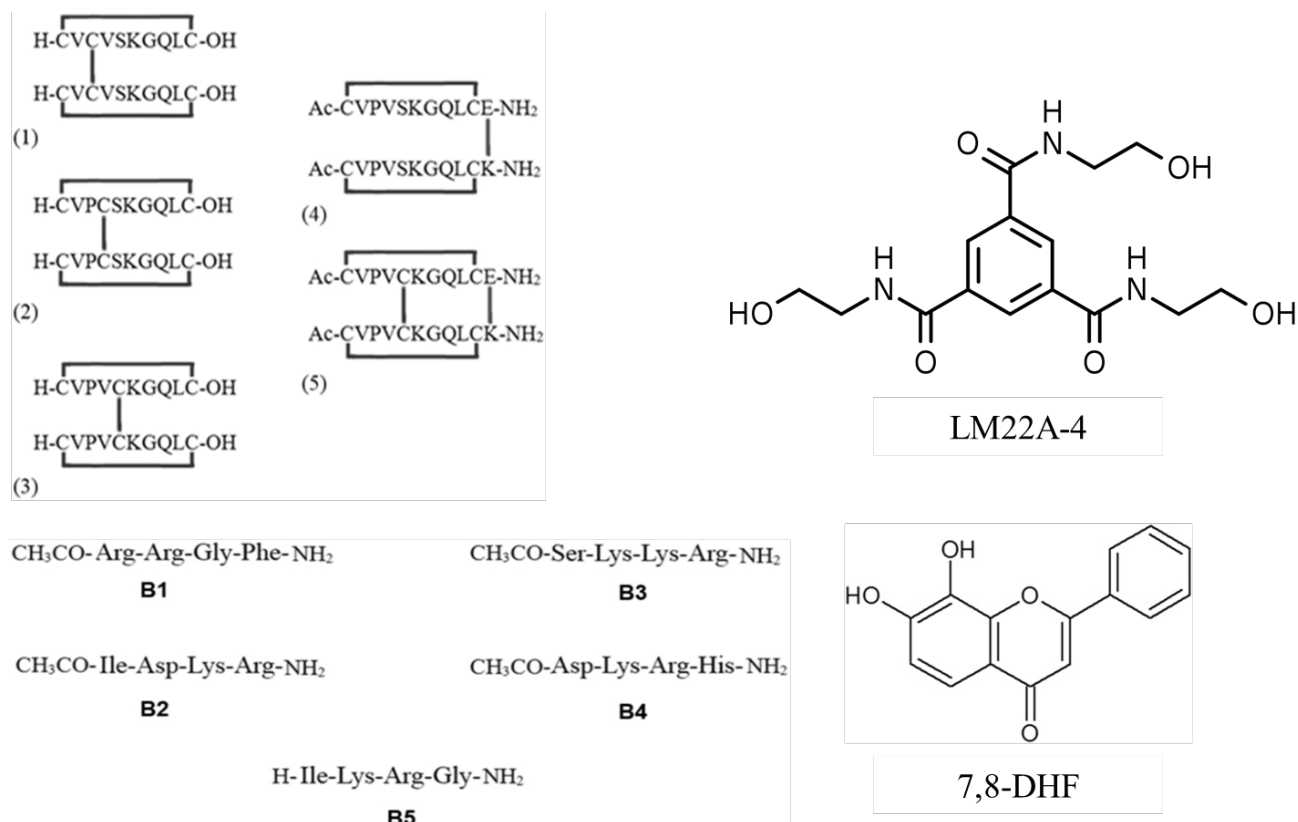


Рисунок 6. Структура миметиков BDNF

До настоящего времени, несмотря на ряд позитивных результатов доклинических исследований, ни один из миметиков-кандидатов не внедрен в клинику как средство лечения нейродегенеративных заболеваний. Все 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. Таким образом, созданные на данный момент низкомолекулярные миметики NGF и BDNF не дают полноценных фармакологических решений.

### 1.7.3. Дипептидные миметики NGF и BDNF

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова член-корр. РАН Т.А. Гудашевой были сформулированы три гипотезы – 1) центральные дипептидные фрагменты бета-изгибов петлеобразных структур нейротрофинов играют ключевую роль во взаимодействии с рецепторами за счет того, что они наиболее экспонированы наружу; 2) различные петли отвечают за различные биологические эффекты



нейротрофинов 3) для достижения агонистической активности необходима симметричная димеризация. Эти гипотезы легли в основу создания димерных дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF [Патент RU2410392, 2011; Патент CN102365294, 2016; Патент US9683014, 2017; Патент IN296506, 2018; Патент EP2397488, 2019]. Эти соединения были сконструированы по единому принципу – центральный наиболее экспонированный дипептидный фрагмент  $\beta$ -изгиба был сохранен, предшествующий аминокислотный остаток был заменен на его биоизомер, С-концевая димеризация была осуществлена с помощью олигометиленаминовых (обычно гексаметилендиамидных) спейсеров. (Гудашева и др., 2010).

Димерные дипептидные миметики ГК-6 (гексаметилендиамид бис-(N-аминокапроил- глицил-L-лизина)), ГТС-115 (гексаметилендиамид бис-(N-гамма-оксибутирил-L-лизил-L-гистидина) и ГК -2 (гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина)) были сконструированы на основе структур  $\beta$ -изгибов петель 1 (Ile<sup>31</sup>-Lys<sup>32</sup>-Gly<sup>33</sup>-Lys<sup>34</sup>), 3 (Ser<sup>73</sup>-Lys<sup>74</sup>-His<sup>75</sup>-Trp<sup>76</sup>) и 4 (Asp<sup>93</sup>-Glu<sup>94</sup>-Lys<sup>95</sup>-Gln<sup>96</sup>) NGF соответственно (рис. 7). В структуре был сохранен наиболее экспонированный фрагмент  $\beta$ -изгиба, а предыдущий аминокислотный остаток был заменен на соответствующий биоизомер: янтарная кислота для Asp, аминоксептановая кислота для Lys и остаток  $\gamma$ -оксимасляной кислоты для Ser (Гудашева и др., 2010; Gudasheva et al., 2015; Gudasheva et al., 2017a).

Аналогичным образом были сконструированы дипептидные миметики ГСБ-214 (гептаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-метионил-L-серина)), ГТС-201 (гексаметилендиамид бис-(N-гексаноил-L-серил-L-лизина)) и ГСБ-106 (гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина)) на основе  $\beta$ -изгибов петли 1 (Asp<sup>30</sup>-Met<sup>31</sup>-Ser<sup>32</sup>-Gly<sup>33</sup>), 2 (Val<sup>44</sup>-Ser<sup>45</sup>-Lys<sup>46</sup>-Gly<sup>47</sup>) и 4 (Asp<sup>93</sup>-Ser<sup>94</sup>-Lys<sup>95</sup>-Lys<sup>96</sup>) BDNF соответственно; аминокислотный остаток Asp был заменен на остаток янтарной кислоты, Val – на остаток гексановой кислоты (рис. 8) (Гудашева и др., 2012).

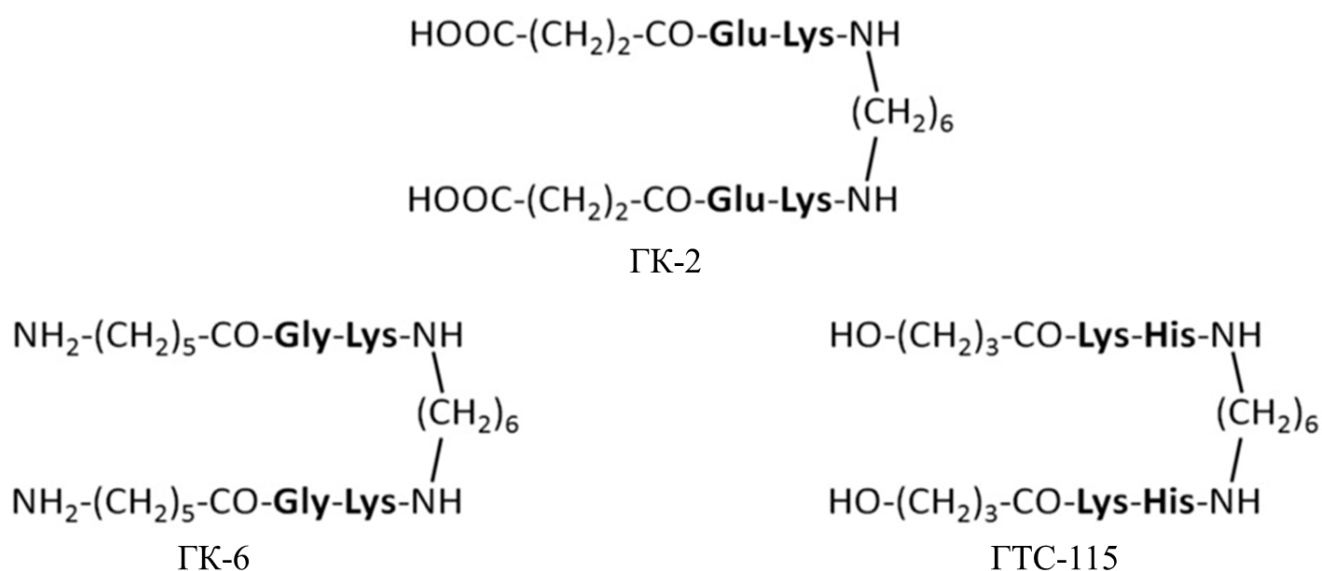


Рисунок 7. Димерные дипептидные миметики NGF ГК-6, ГТС-115 и ГК-2.

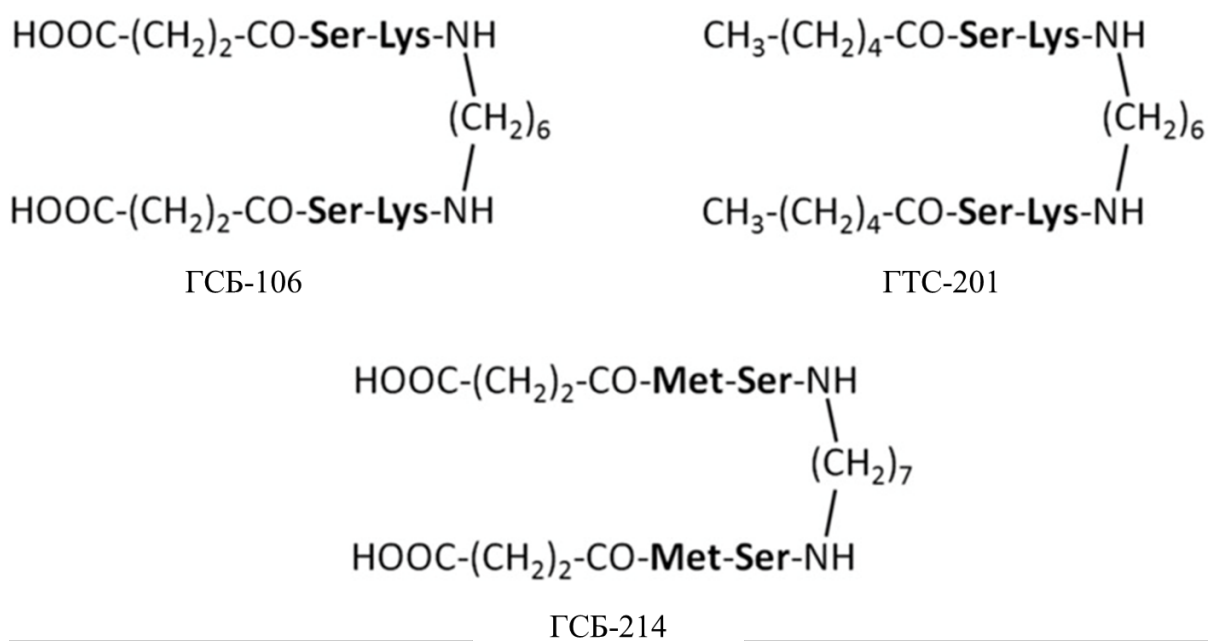


Рисунок 8. Димерные дипептидные миметики BDNF ГСБ-214, ГТС-201 и ГСБ-106.

Все полученные соединения проявляли нейропротекторную активность *in vitro* в микро-наномолярных концентрациях (Антипова, 2010; Gudasheva et al., 2012; Gudasheva et al., 2015; Logvinov et al., 2013). Было показано, что все дипептидные миметики активируют специфические для соответствующего полноразмерного нейротрофина тирозинкиназные рецепторы (TrkA или TrkB) и

имеют разные паттерны активации основных сигнальных путей этих рецепторов – PI3K/Akt и MAPK/ERK – некоторые миметики активируют оба этих пути, в то время как другие селективно активируют один из них (Гудашева и др., 2014; Gudasheva et al., 2015; Gudasheva et al., 2017b), при этом все соединения активируют PLC- $\gamma$ 1 каскад (Gudasheva et al., 2020). Паттерны активации пострецепторных сигнальных путей миметиков NGF и BDNF показаны в таблице 1.

Таблица 1. Паттерны активации пострецепторных сигнальных миметиков NGF и BDNF (Gudasheva et al., 2021).

№ пет ли	Кодовое название	Химическое название	Активация PI3K/Akt пути	Активация MAPK/ERK пути	Активация PLC- $\gamma$ 1 пути
NGF					
1	ГК-6	гексаметилендиамид бис-(N-аминокапроил-глицил-L-лизина)	+	+	+
3	ГТС-115	гексаметилендиамид бис-(N-гамма-оксибутирил-L-лизил-L-гистидина)	+	+	+
4	ГК-2	гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина)	+	–	+
BDNF					
1	ГСБ-214	гептаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-метионил-L-серина)	+	–	+
2	ГТС-201	гексаметилендиамид бис-(N-гексаноил-L-серил-L-лизина)	–	+	+
4	ГСБ-106	гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина)	+	+	+

Миметики NGF и BDNF были активны *in vivo* при системном введении, включая пероральное, при этом у миметиков разных петель нейротрофинов в соответствии с выдвинутой гипотезой (Гудашева и др., 2010; Gudasheva et al., 2012) были выявлены разные наборы фармакологической активности из спектра активностей соответствующего нейротрофина. При этом, в отличие от полноразмерных нейротрофинов, миметики проникают через ГЭБ. При изучении фармакокинетики ГК-2 с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектропии (ВЭЖХ/МС) на крысах при внутрибрюшинном введении показало, что вещество определяется в разных органах и тканях, в том числе в головном мозге, в течение 1,5-2 ч (Середенин и др., 2015). ГСБ-106 также обнаруживается в мозге после перорального и внутривенного введения, достигая максимальной концентрации через 1 ч (Жердев и др., 2019).

В ряду миметиков NGF была выявлена активность ГК-2 и ГТС-115 на модели транзиторной окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА). Было установлено, что оба этих соединения проявляют близкую по выраженности нейропротекторную активность (снижение объема инфаркта мозга соответственно на 36 и 28%) и улучшают неврологический статус крыс в условиях транзиторной окклюзии средней мозговой артерии (Поварнина и др., 2016). ГК-2 и ГТС-115 лишены основных побочных эффектов полноразмерного NGF – гиперальгезии и потери веса (Гудашева и др., 2017; Gudasheva et al., 2015). Наиболее активным на модели ОСМА оказался ГК-2 – он проявляет нейропротекторную активность при длительности терапевтического окна 4, 6 и 8 ч после повреждения, при этом максимальную активность препарат проявляет при терапевтическом окне 6 ч (снижение объема инфаркта мозга на 60%). Эффективность ГК-2 на той же модели выше, чем у Мексидола (Поварнина и др., 2017). Также выявлено, что ГК-2 стимулирует нейрогенез в гиппокампе и стриатуме при экспериментальном ишемическом инсульте (Gudasheva et al., 2019). Нейропротекторные эффекты ГК-2 были продемонстрированы и на ряде других экспериментальных моделей. ГК-2 уменьшал объем инфаркта на 62% при субхроническом введении в модели ишемического инсульта у крыс, вызванного билатеральным фототромбозом

(Середенин и др., 2010); миметик предотвращал гибель животных в модели неполной глобальной ишемии у крыс, вызванной двусторонней стойкой окклюзией общих сонных артерий при субхроническом введении (Поварнина и др., 2012); в модели полной глобальной ишемии у крыс, вызванной остановкой сердца с последующей реанимацией, ГК-2 ускорял восстановление неврологического статуса у крыс. животных и предотвращал повреждение клеток Пуркинье и пирамидных нейронов (Аврущенко и др., 2012). Наиболее активная доза для ГК-2 – 1 мг/кг (Середенин и др., 2015).

Для ГК-2 показаны также антипаркинсонические эффекты. В модели галоперидоловой каталепсии у крыс ГК-2 уменьшал выраженность каталепсии на 80–90% при внутрибрюшинном введении в дозах 0,01–5 мг/кг. В модели МФТП-индуцированного паркинсонизма у мышей ГК-2 статистически значимо уменьшал выраженность олигокинезии и ригидности, а при субхроническом введении полностью предотвращал развитие ригидности (Поварнина и др., 2011). Антидиабетическая активность ГК-2 была выявлена на модели диабета 2 типа, вызванного введением стрептозотоцина, у мышей линии C57Bl/6. ГК-2 при хроническом введении в дозе 0,5 мг/кг оказывал выраженный антигипергликемический эффект и восстанавливал массу тела мышей с диабетом (Ягубова и др., 2017).

Дипептидные миметики BDNF ГСБ-106 и ГСБ-214 показали нейропротекторную активность *in vivo* на модели ишемического инсульта, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии у крыс; соединения уменьшали объем повреждения мозга на 66% и 28% соответственно (Gudasheva et al., 2016). Для ГСБ-106 выявлено антидепрессантная активность в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг внутрибрюшинно в тесте принудительного плавания на мышах BALB/c. Антидепрессивные свойства ГСБ-106 были подтверждены на беспородных мышах и крысах при остром и субхроническом внутрибрюшинном введении в тесте водяного колеса Номуры и в тесте подвешивания за хвост (Середенин и др., 2013). Хроническое введение ГСБ-106 (1,0 мг/кг внутрибрюшинно, 21 день) мышам приводило к значительному (50%) увеличению

содержания синаптофизина (белка мембраны синаптических везикул) в гиппокампе (Gudasheva et al., 2018).

Дипептидные миметики BDNF, активирующие PI3K/AKT каскад, проявляли антидиабетическую активность при хроническом введении, при этом наиболее активным был ГСБ-214. Было подтверждено, что активация пути PI3K/AKT необходима для антидиабетической активности с помощью фармакологического ингибиторного анализа. LY294002, специфический ингибитор PI3K/AKT, устранял антидиабетическую активность ГСБ-214 (Yagubova et al., 2020).

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Вещества

Димерные дипептидные миметики нейротрофинов были получены в Отделе химии лекарственных средств НИИ фармакологии им. В.В. Закусова методами классического пептидного синтеза в растворе, с использованием Z/Woc-стратегии защитных групп (Гудашева и др., 2017; Сазонова и др., 2015; Сазонова и др., 2018). **ГК-2:** м.м.= 830.92, чистота= 97.4%,  $[\alpha]^{22D} = -47.0^\circ$  (с 0.1; H<sub>2</sub>O), т.пл. = 120 – 128°C; **ГК-6:** м.м.= 712.97, чистота= 96.0%,  $[\alpha]^{22D} = -23.3^\circ$  (с 1; H<sub>2</sub>O); **ГСБ-106:** м.м.= 746.85, чистота= 99.2%,  $[\alpha]^{21D} = -42.3^\circ$  (с 1; H<sub>2</sub>O), т.пл. = 153 – 161°C; **ГСБ-214:** м.м.= 766.92, чистота= 95.5%,  $[\alpha]^{25D} = +9.0^\circ$  (с 0.4; DMF), т.пл. = 162 – 163°C; **ГТС-201:** м.м.= 742.99, чистота= 98.0%,  $[\alpha]^{25D} = -14.9^\circ$  (с 0.6; MeOH), т.пл. = 110 – 125°C. 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, головной мозг извлекали при температуре 0-4°C и выделяли префронтальную кору и гиппокамп, которые затем замораживали в жидком азоте и хранили при -70 °C. Влияние вещества на иммунореактивность к белку-предшественнику амилоида (APP) в коре и гиппокампе оценивали с помощью Вестерн-блот анализа (Towbin et al., 1979). После размораживания образцы тканей гомогенизировали при температуре 4°C в стеклянном гомогенизаторе с лизирующим буфером (50 mM трис- HCl, 5 mM ЭДТА, 1 mM

дитиотреитола, 1% тритона X-100, pH 7.5), содержащим коктейль ингибиторов протеаз (пепстатин, бестатин, лейпептин и апротинин, “Sigma-Aldrich”, США), отношение ткань: буфер = 1:10 (вес/объем). Затем инкубировали в течение 20 мин при 4°C и центрифугировали 20 мин при 15000 об/мин (центрифуга Allegra® X-12R “BeckmanCoulterInc.”, США) при той же температуре. Концентрацию белка в супернатанте для дальнейшего нанесения в одинаковых количествах определяли по методу Фолина-Лоури (Lowry et al, 1951). На каждую дорожку наносили образец, содержащий 25 -100 мкг белка. В качестве референсного белка использовали β-актин. Белки супернатанта разделяли в 12%-м полиакриламидном геле и далее переносили на мембрану из поливинилиденфторида электроэлюцией. Затем мембраны инкубировали в трис-HCl буфере (200 mM, pH=7,5), содержащим 1% твина-20 (TBST) и 5% (вес/объем) обезжиренного молока, в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем мембраны в течение 1,5 ч инкубировали при комнатной температуре с первичными моноклональными антителами против APP (Thermo Fisher Scientific, США) избыток антител отмывали TBST с 0,5% (вес/объем) обезжиренным молоком, и мембраны инкубировали 1 ч при комнатной температуре со вторичными козьими антителами против IgG кролика (“Santa Cruz Biotechnology”, США, 1:2000), конъюгированными с пероксидазой хрена. Детектирование белков осуществляли после отмывки от вторичных антител в TBST в реакции с реагентами-усилителями хемилюминесценции (ECL-реагенты, “Santa Cruz Biotechnology”) с использованием гель-документирующей системы Alliance Q9 (“UVITEC”, Великобритания). Денситометрию полученных изображений проводили с помощью программы GIMP 2.0 (GNOME Foundation, США).

### **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 эксперименты выполняли в интервале 10.00–14.00 по местному времени. Животных содержали в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биоэтике ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова» и Этическим Комитетом ФГБНУ «Научный центр неврологии».

### **Поведенческие тесты**

#### *Тест распознавания нового объекта*

Тест распознавания нового объекта (Novel object recognition test, NOR) является относительно быстрым и эффективным средством тестирования различных фаз обучения и памяти у крыс. Первоначально он был описан в 1988 г. (Ennaceur et al., 1988). Тест состоит из следующих сессий: сессия адаптации, сессия ознакомления и одна или более тестовые сессия. Ознакомление включает в себя визуальное исследование двух идентичных объектов, в то время как тестовая сессия включает замену одного из ранее исследованных объектов новым объектом. Поскольку у грызунов есть врожденное предпочтение новизны, животное которое помнит знакомый объект, потратит больше времени на изучение нового (Ennaceur, 2010). Главное преимущество этого теста перед другими тестами, направленными на оценку памяти грызунов, заключается в том, что он основан на их естественной склонности к исследованию новизны. При проведении теста не возникает необходимости в длительном обучении или каком-либо положительном, или отрицательном подкреплении для мотивации поведения. Поэтому тест распознавания нового объекта вызывает меньше стресса по сравнению с другими тестами и требует значительно меньше времени для выполнения, чем другие

широко используемые тесты памяти, такие как водный лабиринт Морриса или лабиринт Барнса. Условия больше напоминают условия, используемые при изучении человеческого познания, что повышает экологическую достоверность теста (Lueptow, 2017).

При проведении теста оцениваются такие параметры как время, затрачиваемое животным на изучение отдельных объектов на этапе ознакомления; общее время, затрачиваемое животным на изучение обоих объектов на этапе ознакомления и тестирования; количество подходов к объектам; индекс дискриминации (разница между временем, затрачиваемым на изучение новых и знакомых объектов, на этапе тестирования). В зависимости от времени проведения тестирования относительно ознакомления тест позволяет оценить как кратковременную, так и долговременную память животных (Antunes et al., 2012).

Так как префронтальная кора играет существенную роль в процессе запоминания объектов, тест позволяет выявить нарушения в этой области мозга (Akirav et al., 2005).

Тест проводили в клетках Т4, идентичных домашним клеткам, в которых содержали животных на протяжении исследования. Крысу сначала сажали в пустую клетку с опилками на 4 мин для адаптации.

*Фаза ознакомления:* в два ближайших угла клетки помещали два одинаковых незнакомых для крысы объекта (герметично закрытые жестяные банки черного цвета объемом 0,33 л). В течение 4 мин регистрировали время исследования крысой каждого объекта. Затем объекты убирали.

*Тест:* в те же углы клетки помещали новую пару объектов, в которой один объект был идентичен объектам, предъявлявшимся в фазе ознакомления, а второй был незнакомым, отличающимся по форме и цвету. В течение 4 мин регистрировали время исследования знакомого и нового объектов (герметично закрытые вытянутые стеклянные бутылочки с жидкостью оранжевого цвета объемом 0,33 л или округлые пластиковые бутылочки с бесцветной прозрачной жидкостью 0,33). Тест проводили через 1 ч (тест 1) и 24 ч (тест 2) после фазы ознакомления для регистрации соответственно кратковременной и

долговременной памяти. В тесте 1 и тесте 2 использовались разные незнакомые объекты. Позиции знакомого и нового объектов (правый и левый угол) меняли от животного к животному. Перед каждым тестом объекты протирали спиртом для уничтожения меток, оставленных предыдущим животным. Исследованием считали обнюхивание, когда нос животного находился на расстоянии не более 2 см от объекта.

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» используется как для оценки ориентировочно-исследовательской и двигательной активности животных и позволяет выявить несколько видов активностей изучаемых фармакологических веществ: седативную/психостимулирующую (двигательная и исследовательская активность), транквилизирующую/анксиолитическую (время, проведенное в центре установки) и ноотропную активность (динамика двигательной и исследовательской активности). Открытое поле позволяет выявить нарушения в базальных ганглиях, а также лимбической системе (Ковалёв и др., 2019).

Установка представляла собой круглую арену из белого непрозрачного пластика. Диаметр арены 90 см, высота стенок 40 см. Пол арены расчерчен на 19 квадратов примерно одинаковой площади и имеет 13 небольших круглых отверстий. Освещение тестовой установки было равномерным, умеренной интенсивности (200 люкс). Животное помещали на пол в центре арены и на протяжении 4 мин регистрировали число пересеченных квадратов и вертикальных стоек.

### *Приподнятый крестообразный лабиринт*

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) позволяет оценить уровень тревожности животных и основан на естественном предпочтении крысами темных мест, а также на страхе нахождения на открытых площадках (основная структура мозга, ответственная за страх – лимбическая система) (Spasov et al., 2018).

Установка выполнена из серого непрозрачного пластика. Длина открытых и закрытых рукавов составляла 50 см, ширина – 15 см. Арена лабиринта находилась на высоте 50 см от пола. Крысу аккуратно помещали в центр установки носом в сторону открытого рукава и в течение 4 мин регистрировали заходы в закрытые и открытые рукава, а также время пребывания в закрытых и открытых рукавах.

### *T-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).

Установка была выполнена из серого непрозрачного пластика. Размер стартового рукава 50 x 16 см, размер боковых рукавов 50 x 10 см, высота стенок 32 см.

Крысу сажали в стартовый рукав. Центральная перегородка при этом была на месте, а все гильотинные перегородки подняты. Когда крыса заходила в один из боковых рукавов, ее там запирали на 30 секунд. Сразу после этого убирали центральную перегородку, поднимали все гильотинные дверцы и крысу сажали снова в стартовый рукав носом от боковых рукавов. Фиксировали, в какой рукав крыса зашла в первый и второй раз. В норме крыса чередует рукава.

### *Y-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).

Установка выполнена из серого непрозрачного пластика. Все три рукава одинаковые, сходятся в центре под углом 120 градусов. Размер рукава 42,5 см х 14,5 см, высота стенок 22,5 см.

Крысу аккуратно помещали в центр установки носом в произвольном направлении и в течение 5 мин регистрировали заходы в рукава, животному разрешалось свободно исследовать все три рукава. В норме крыса должна исследовать наиболее давно посещенный рукав, т. е. исследовать рукава по очереди. Количество заходов, а также количество триад использовались для вычисления процента чередований по формуле

$$\% \text{ чередований} = \frac{\text{общее количество чередований}}{\text{количество заходов в рукава} - 2} \times 100\%$$

Заход в рукав регистрировали, когда все четыре конечности крысы находились внутри.

### **Дизайн исследования 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. Время проведения тестирования выбрано на основании предыдущих экспериментов об активности миметиков. В частности, ГК-2 был наиболее активен через 24 ч после введения при проверке его нейропротекторного действия *in vitro* и *in vivo*, что предположительно связано с тем, что эффекты ГК-2 опосредованы индукцией синтеза новых белков (Поварнина, 2013).

#### **Дизайн исследования доза-эффекта ГК-2 и ГСБ-214 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта**

Были проведены дополнительные отдельные эксперименты с различными дозами активных миметиков ГК-2 и ГСБ-214. Животные были разделены случайным образом на контрольную группу, получавшую однократно внутривенно (в/в) дистиллированную воду, и группы, получавшие однократно в/в ГК-2 в дозах 0,1; 0,5 и 5,0 мг/кг (всего 4 группы). Через 24 ч после инъекции начинали тест распознавания нового объекта. Аналогичным образом был проведен эксперимент с ГСБ-214 в дозах 0,01; 0,1 и 5,0 мг/кг.

#### **Дизайн исследования мнемотропного эффекта ГСБ-214 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта с использованием блокатора K252A**

Крысы были разделены случайным образом на группы: Контроль (дист. вода и 1% DMSO в физ. растворе, n=12), ГСБ-214 0,1 мг/кг (ГСБ-214 и 1% DMSO, n=13), ГСБ-214 0,1 мг/кг + K252A 100 мкг/кг (n=12), K252A 100 мкг/кг (дист. вода и K252A, n=13). ГСБ-214 в дозе 0,1 мг/кг или эквивалентное количество дистиллированной воды вводили в/в через 20 мин после в/в инъекции K252A в дозе 100 мкг/кг в 1% DMSO или 1% DMSO. Через 24 ч начинали тест распознавания нового объекта.

### **Дизайн исследования эффектов миметика ГК-2 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера**

Крыс разделяли случайным образом на группы: Контроль (n=10), Скополамин (SC) (n=8), SC + ГК-2 (0,5 мг/кг) (n=8), SC + ГК-2 (1,0 мг/кг) (n=10). Скополамин в физ. растворе вводили крысам в дозе 2 мг/кг, внутривенно (в/в) в течение 35 дней. Параллельно со скополамином, через два часа после инъекции SC, животным в/в 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. Здесь и далее поведенческие тесты проводили в конце эксперимента для оценки эффективности хронического введения ГК-2 при сформировавшейся патологии.

### **Дизайн исследования эффектов миметика ГСБ-214 на скополаминовой модели болезни Альцгеймера**

Крыс разделяли случайным образом на группы: Контроль (n=9), Скополамин (SC) (n=10), SC + ГСБ-214 (0,05 мг/кг) (n=10), SC + ГСБ-214 (0,1 мг/кг) (n=9), SC + ГСБ-214 (1,0 мг/кг) (n=10). Скополамин в физ. растворе вводили крысам в дозе 2,0 мг/кг, внутривенно (в/в) в течение 20 дней. ГСБ-214 в дистиллированной воде вводили в дозах 0,05; 0,1 и 1,0 мг/кг, в/в 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.

## **Дизайн исследования эффектов миметика ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели болезни Альцгеймера**

Крыс разделяли случайным образом на группы: Контроль (n=10), Стрептозотозин (STZ) (n=7), STZ + ГСБ-214 (0,1 мг/кг) (n=8). 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. Крыс вводили в глубокий наркоз с помощью хлоралгидрата (350 мг/кг, в/б), после чего декапитировали. Головной мозг извлекали при температуре 0–4°C и выделяли префронтальную кору и гиппокамп, которые затем замораживали в жидком азоте и хранили при -70°C.

### **Электрофизиологические исследования**

Влияние миметиков на вызванную синаптическую активность изучали на переживающих поперечных срезах гиппокампа 5-8 недельных крыс Wistar. Срезы гиппокампа 300-500 мкм получали с помощью виброножа оригинальной конструкции [Патент RU214839, 2022]. Срезы инкубировали 1-1,5 ч при комнатной температуре (25 °C) в растворе следующего состава (в mM): 124 NaCl, 3 KCl, 2,5 CaCl<sub>2</sub>, 1,25 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2,5 MgSO<sub>4</sub>, 26 NaHCO<sub>3</sub> и 10 D-глюкозы, pH=7,4, при насыщении карбогеном (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>). Далее срезы переносили в суперфузионную камеру для регистрации, где срез перфузировали раствором того же состава со скоростью потока 7-8 мл/мин, 30°C. Фокальные возбуждающие постсинаптические потенциалы (фВПСП) регистрировали в *str. radiatum* поля CA1 *str. pyramidale* с помощью стеклянных микрокапилляров заполненных 1,5 NaCl (2-5 МОм). 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. Силу стимула перед экспериментом подбирали так, чтобы вызвать ответ, амплитуда которого составляла половину от максимальной амплитуды фВПСП, и давали ответу стабилизироваться в течение 10-20 мин. Сигналы записывали с помощью усилителя А-М Systems модели 1800 (USA), используя фильтры 1 Гц и 1 кГц и частоту оцифровки 5кГц, и программного пакета WinWCP v5.7.0 (University of Strathclyde, UK), анализировали в программе Clampfit 10.2 (Axon Instruments, USA).

### **Статистический анализ**

Статистическую обработку полученных в ходе экспериментов данных проводили с помощью компьютерной программы GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, USA). Для проверки нормальности распределения использовали критерий Шапиро-Уилка W. Статистическую значимость при сравнении нескольких групп оценивали с помощью однофакторного или двухфакторного дисперсионного анализа – one-way ANOVA или two-way ANOVA. При сравнении двух групп – с помощью критерия Стьюдента (paired t-test).

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

#### 3.1. 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) (табл. 2, рис. 10).

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) (табл. 2, рис. 11). ГК-6 не вызывал изменения коэффициента дискриминации (табл. 2, рис. 11). При этом ни в одной из групп не наблюдалось отличий в количестве подходов к исследуемым объектам и времени исследования.

Таблица 2. Эффекты дипептидных миметиков NGF ГК-2 и ГК-6 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта.

Группа (число животных в группе)	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=7)	0,53 ± 0,08	0,20 ± 0,08
ГК-2, 0,5 мг/кг (n=7)	0,38 ± 0,01	<b>0,47 ± 0,07*</b>
ГК-2, 1 мг/кг (n=7)	0,52 ± 0,1	<b>0,47 ± 0,07*</b>
Контроль (n=10)	0,51 ± 0,08	0,56 ± 0,06
ГК-6, 2 мг/кг (n=10)	0,61 ± 0,07	0,42 ± 0,06
ГК-6, 5 мг/кг (n=10)	0,60 ± 0,07	0,53 ± 0,05

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

\* -  $p < 0.05$  по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

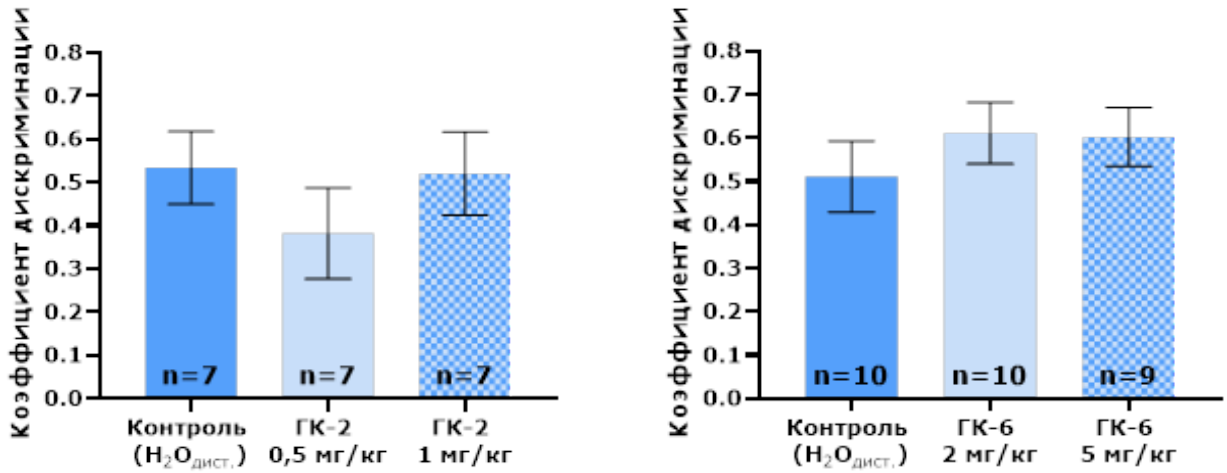


Рисунок 10. Эффекты дипептидных миметиков NGF ГК-2 и ГК-6 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта через 1 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

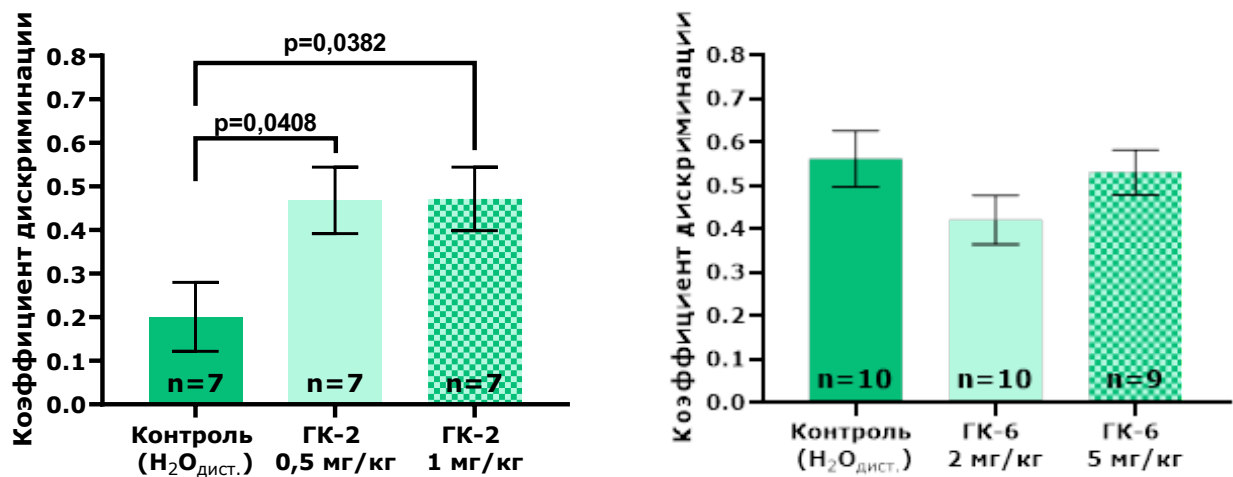


Рисунок 11. Эффекты дипептидных миметиков NGF ГК-2 и ГК-6 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение p представлено по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett 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 (табл. 3, рис.

12). 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 ( $p=0,0206$ ) (табл. 3, рис. 13). 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.

Таблица 3. Эффекты дипептидных миметиков BDNF ГСБ-214, ГТС-201 и ГСБ-106 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта.

Группа (число животных в группе)	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=10)	0,53 ± 0,08	0,50 ± 0,05
ГТС-201, 0,1 мг/кг (n=10)	0,61 ± 0,06	0,53 ± 0,08
ГТС-201, 1 мг/кг (n=10)	0,62 ± 0,06	0,57 ± 0,05
ГТС-201, 5 мг/кг (n=10)	0,51 ± 0,06	0,58 ± 0,04
Контроль (n=10)	0,32 ± 0,08	0,49 ± 0,05
ГСБ-106, 0,1 мг/кг (n=10)	0,34 ± 0,09	0,48 ± 0,05
ГСБ-106, 0,5 мг/кг (n=10)	0,25 ± 0,07	0,34 ± 0,06
ГСБ-106, 1 мг/кг (n=10)	0,41 ± 0,08	0,34 ± 0,05
Контроль (n=12)	0,73 ± 0,05	0,34 ± 0,07
ГСБ-214, 0,1 мг/кг (n=10)	0,76 ± 0,04	<b>0,62 ± 0,04*</b>
ГСБ-214, 1 мг/кг (n=10)	0,76 ± 0,03	<b>0,57 ± 0,06*</b>

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

\* -  $p < 0.05$  по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

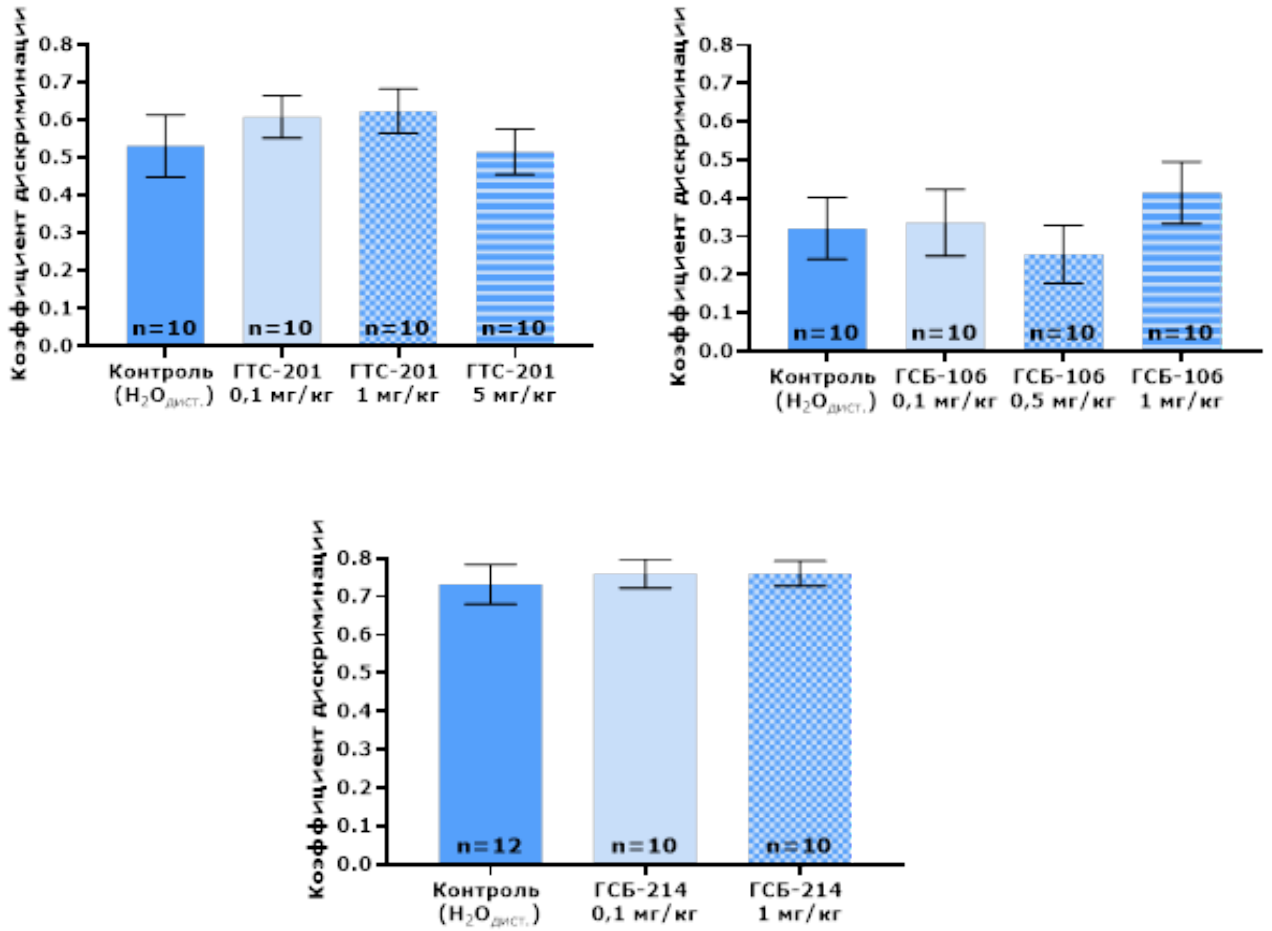


Рисунок 12. Эффекты дипептидных миметиков BDNF ГСБ-214, ГТС-201 и ГСБ-106 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта через 1 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

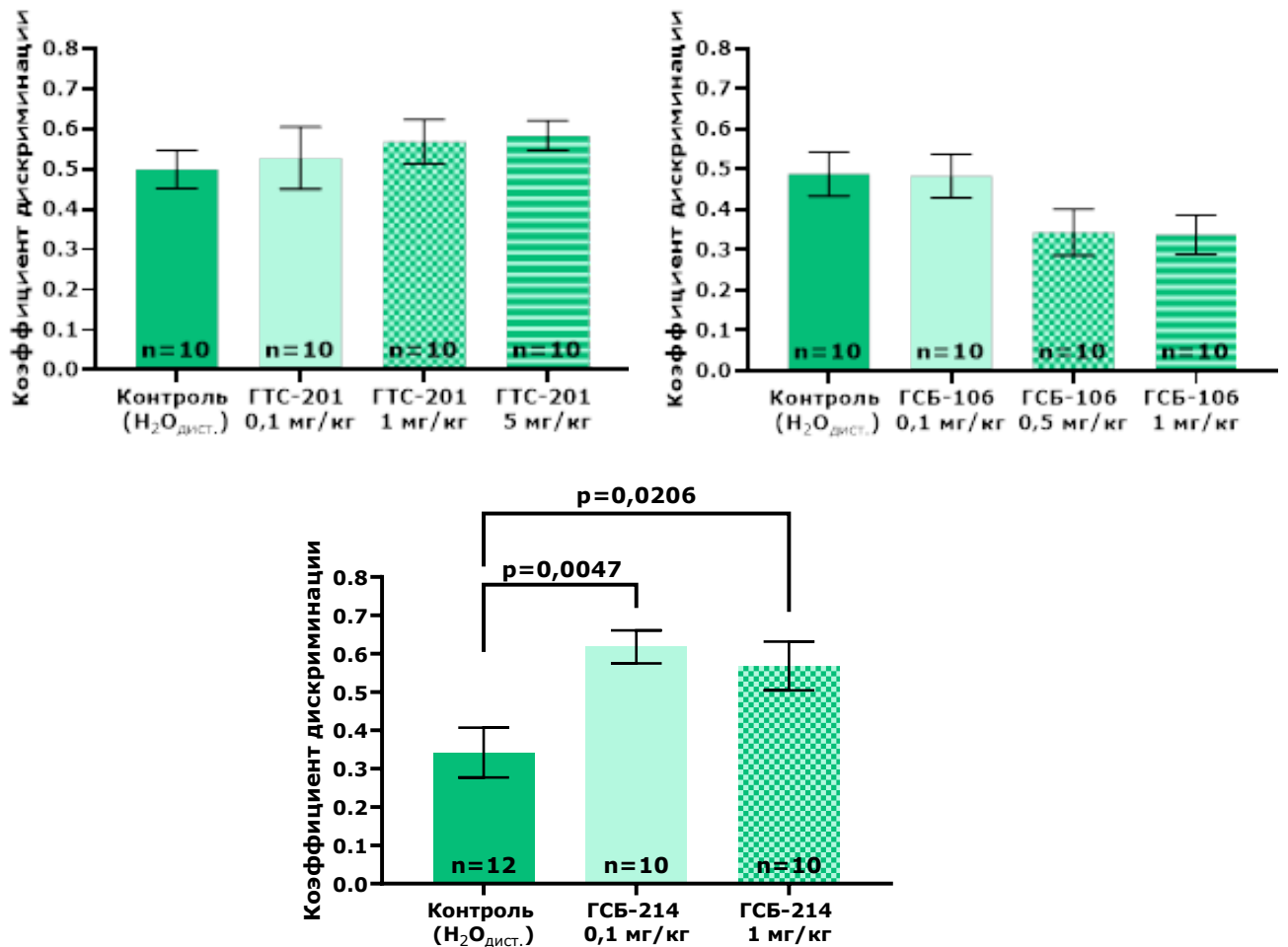


Рисунок 13. Эффекты дипептидных миметиков BDNF ГСБ-214, ГТС-201 и ГСБ-106 при однократном введении в тесте распознавания нового объекта через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение p представлено по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

### 3.2. 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) (табл. 4, рис. 14А).

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 (табл. 4, рис. 14Б). КД был увеличен в 2,7 раз ( $p < 0,0001$ ). В дозах 0,1 и 5,0 мг/кг дипептид был неактивен.

Таблица 4. Эффект различных доз ГК-2 в тесте распознавания нового объекта.

Группа (число животных в группе)	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=10)	0,47 ± 0,05	0,15 ± 0,03
ГК-2, 0,1 мг/кг (n=10)	0,53 ± 0,07	0,16 ± 0,04
ГК-2, 0,5 мг/кг (n=10)	0,46 ± 0,04	<b>0,44 ± 0,06****</b>
ГК-2, 5 мг/кг (n=10)	0,55 ± 0,06	0,21 ± 0,06

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

\*\*\*\* -  $p < 0,0001$  по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

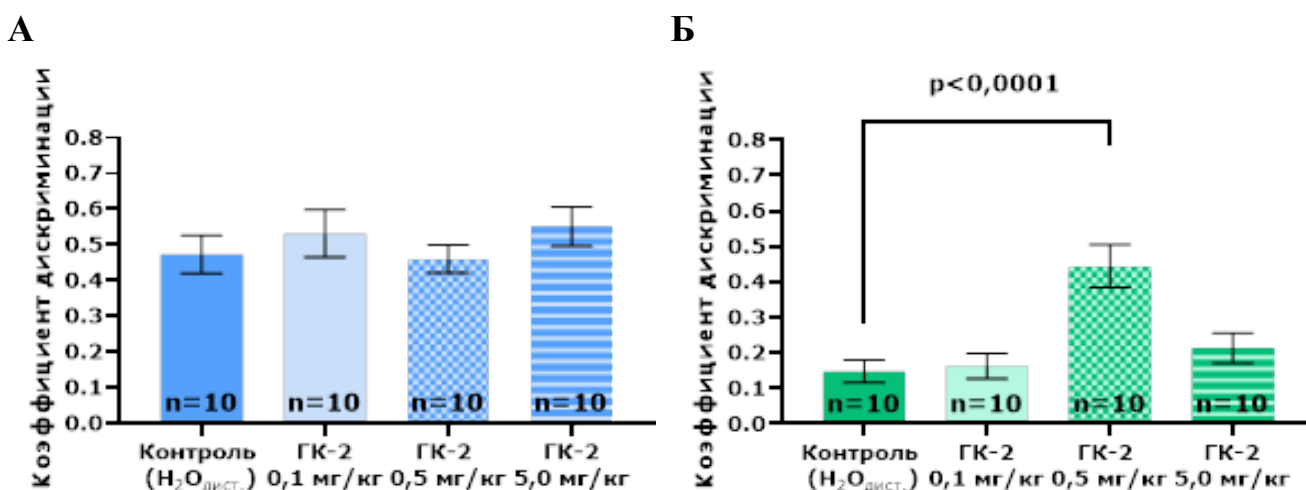


Рисунок 14. Эффекты различных доз ГК-2 в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 час после фазы ознакомления. Б – через 24 часа после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение  $p$  представлено по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таким образом кривая «доза-эффект» для миметика 4-й петли NGF ГК-2 имеет характерный для регуляторных пептидов вид колокола (рис. 15).

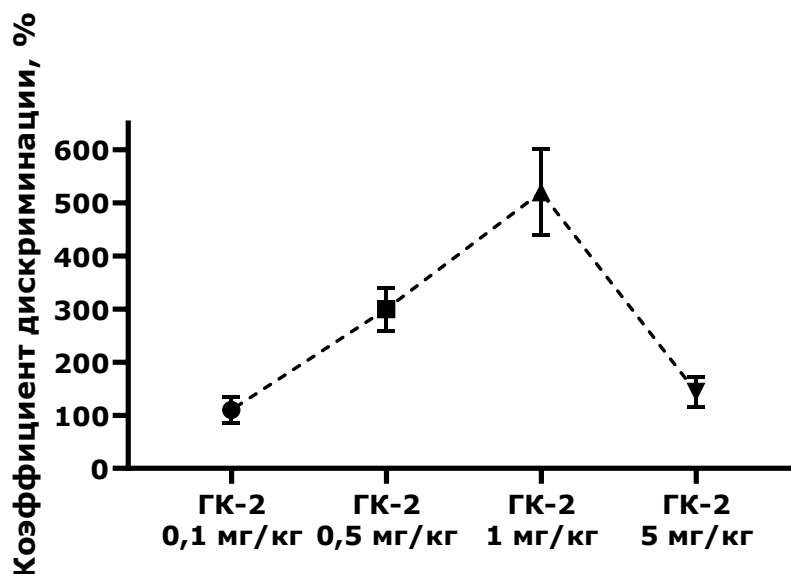


Рисунок 15. Кривая «доза-эффект» миметика 4-й петли NGF ГК-2. Данные представлены в виде процентных значений от контроля. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

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 (табл. 5, рис. 16А), 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 (табл. 5, рис. 16Б).



Таблица 5. Эффекты различных доз ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта.

Группа	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=10)	0,38±0,06	0,29±0,03
ГСБ-214, 0,01 мг/кг (n=10)	0,45±0,06	0,31±0,05
ГСБ-214, 0,1 мг/кг (n=10)	0,43±0,05	<b>0,6±0,04****</b>
ГСБ-214, 5,0 мг/кг (n=10)	0,38±0,05	0,26±0,04

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

\*\*\*\* -  $p < 0,0001$  по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

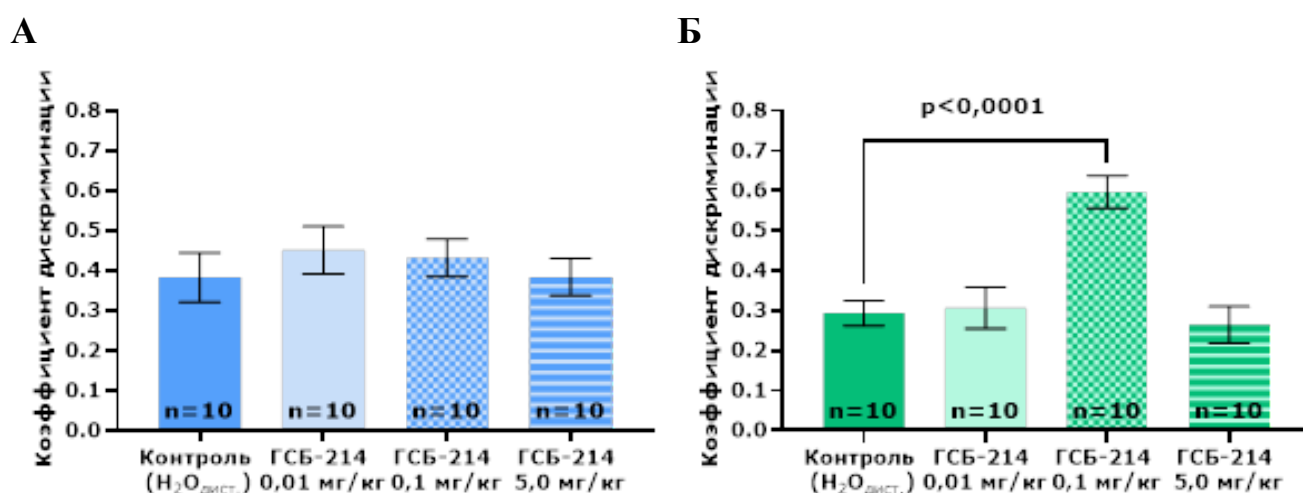


Рисунок 16. Эффекты различных доз ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 ч после фазы ознакомления. Б – через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение  $p$  представлено по сравнению с группой «Контроль» (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таким образом кривая «доза-эффект» для миметика 1-й петли BDNF ГСБ-214 также имеет характерный для регуляторных пептидов вид колокола (рис. 17).

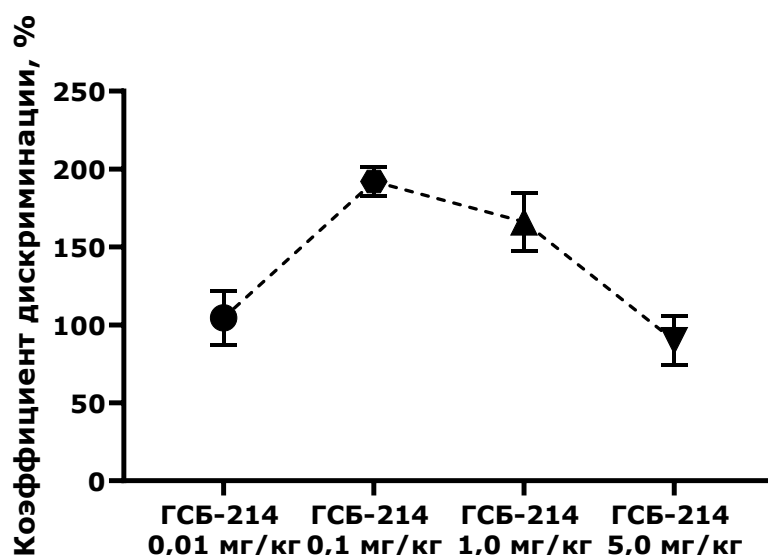


Рисунок 17. Кривая «доза-эффект» миметика 1-й петли BDNF ГСБ-214. Данные представлены в виде процентных значений от контроля. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

### 3.3. 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. Не было выявлено статистически значимых межгрупповых различий в коэффициенте дискриминации в тесте 1 (табл. 6, Рис. 18).

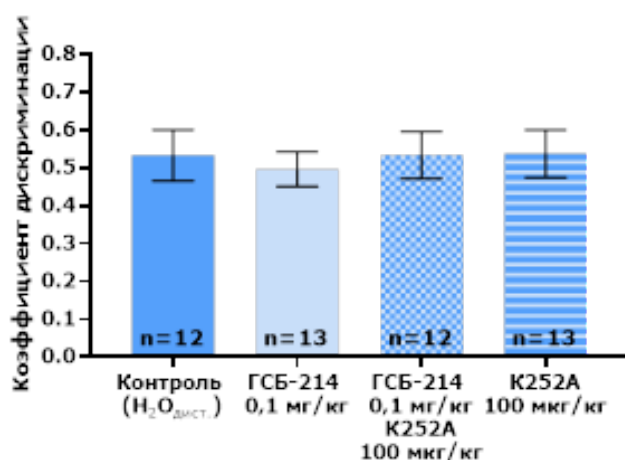
Таблица 6. Фармакологический ингибиторный анализ влияния ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта.

Группа	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=12)	0,53±0,07	<b>0,47±0,06***</b>
ГСБ-214 0,1 мг/кг (n=13)	0,5±0,05	0,73±0,03
ГСБ-214 0,1 мг/кг + K252A 100 мкг/кг (n=12)	0,53±0,06	<b>0,36±0,03****</b>
K252A 100 мкг/кг (n=13)	0,54±0,06	<b>0,43±0,05****</b>

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

\*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\*\*\* -  $p < 0,0001$  по сравнению с группой «ГСБ-214 (0,1 мг/кг)» (two-way ANOVA, Tukey test).

А



Б

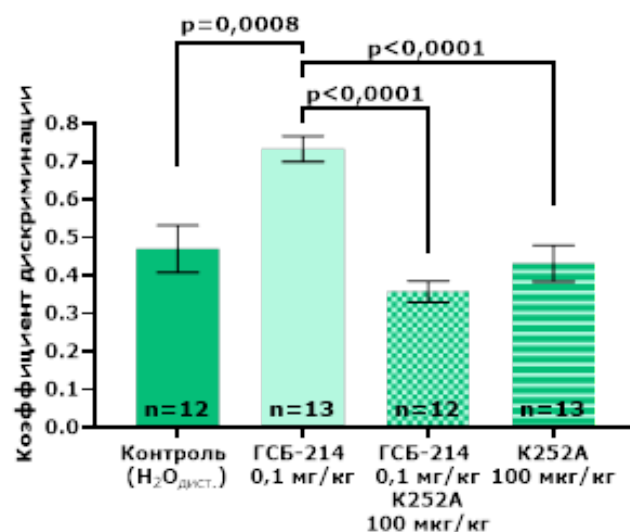


Рисунок 18. Фармакологический ингибиторный анализ влияния ГСБ-214 в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 ч после фазы ознакомления. Б – через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение p представлено по сравнению с группой «ГСБ-214 (0,1 мг/кг)» (two-way ANOVA, Tukey test).

### 3.4. 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 (табл. 6, рис. 19А). 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»). Дипептид ГК-2 в дозе 0,5 мг/кг был не активен (табл. 6, рис. 19Б).

Межгрупповых различий в тестах «Открытое поле» (табл. 7), «ПКЛ» при естественном и ярком освещении (табл. 8 и 9) 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».

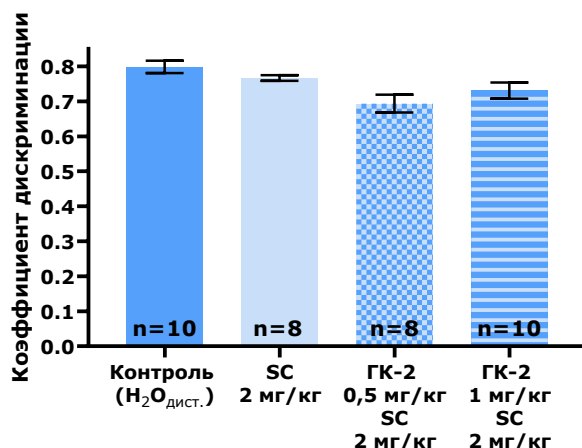
Таблица 6. Эффекты ГК-2 на модели скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта.

Группа	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=10)	0,80±0,02	<b>0,71±0,03**</b>
SC (n=8)	0,77±0,01	0,56±0,03
SC+ ГК-2 0,5 мг/кг (n=8)	0,69±0,03	0,60±0,04
SC+ ГК-2 1,0 мг/кг(n=10)	0,73±0,02	<b>0,70±0,03*</b>

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

\* -  $p < 0.05$ , \*\* -  $p < 0.01$ , по сравнению с группой «SC» (one-way ANOVA, Dunnett test).

А



Б

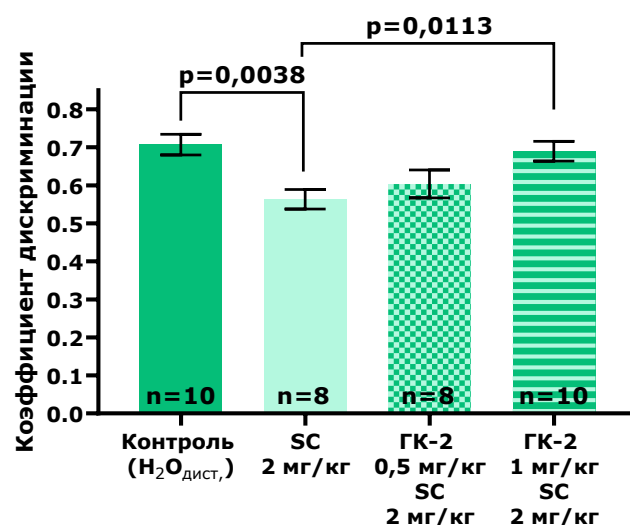


Рисунок 19. Эффекты ГК-2 на модели скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 ч после фазы ознакомления. Б – через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение  $p$  представлено по сравнению с группой «SC 2 мг/кг» (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таблица 7. Эффекты ГК-2 на модели скополаминовой амнезии в тесте «Открытое поле».

Группы	Горизонтальная активность	Вертикальная активность	Число пересеченных квадратов на периферии поля	Число пересеченных квадратов в 2/3 поля	Число пересеченных квадратов в центре поля
Контроль (n=10)	48,3±3,1	11,5±1,3	36,3±2,7	10,3±1,6	1,7±0,5
SC (n=8)	57,6±4,1	9,9±1,1	47,1±3,7	9,1±1,1	1,4±0,4
SC+ ГК-2 0,5 мг/кг (n=8)	46,3±3	9,7±1,5	38,5±2,3	6,5±1,3	1,2±0,3
SC+ ГК-2 1,0 мг/кг (n=10)	55,6±3,9	10,5±1,5	45,1±3,6	8,9±1,8	1,6±0,4

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

Таблица 8. Эффекты ГК-2 на модели скополаминовой амнезии в тесте ПКЛ при слабом освещении (100 люкс).

Группы	Время в закрытых рукавах, с	Время в открытых рукавах, с	% времени в открытых рукавах	Число заходов в закрытые рукава	Число заходов в открытые рукава	% заходов в открытые рукава
Контроль (n=10)	115,9±17,6	90,7±18,7	43,4±8,4	6,5±0,9	4,5±0,6	42±3,2
SC (n=8)	98±13,8	111,4±13,6	53,2±6,4	6,7±0,6	4,4±0,7	38±1,8
SC+ ГК-2 0,5 мг/кг (n=8)	114,5±15,9	93,1±14,4	45,2±6,7	6,7±0,9	5,2±1	40±5,3
SC+ ГК-2 1,0 мг/кг(n=10)	91,3±5,1	114,1±11	54,5±3,9	7±0,8	5,6±0,5	45±3,4

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

Таблица 9. Эффекты ГК-2 на модели скополаминовой амнезии в тесте ПКЛ при ярком освещении открытых рукавов (400–500 люкс).

Группы	Время в закрытых рукавах, с	Время в открытых рукавах, с	% времени в открытых рукавах	Число заходов в закрытые рукава	Число заходов в открытые рукава	% заходов в открытые рукава
Контроль (n=10)	137,4±21,9	53,3±10,7	33±8,4	6,3±0,8	3,7±0,6	35±5,1
SC (n=8)	115±14,2	69,5±12,7	37±6,3	6,4±0,6	5±0,9	41±4
SC+ ГК-2 0,5 мг/кг (n=8)	123,6±24,3	67,4±18,9	37±10,3	5,6±0,8	3,9±0,9	36±7
SC+ ГК-2 1,0 мг/кг(n=10)	116,4±14,9	88,7±14,9	43±7	5,1±0,3	5,7±0,8	51±3,7

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

### 3.5. 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 (табл. 7, рис. 20А). 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 (табл. 10, рис. 20Б).

Межгрупповых различий в тесте «У-лабиринт» не наблюдалось (табл. 11).

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.

Таблица 10. Эффекты ГСБ-214 на модели скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта.

Группа	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 2 (24 ч)
Контроль (n=9)	<b>0,57±0,05*</b>	<b>0,53±0,06**</b>
SC (n=10)	0,3±0,06*	0,23±0,06
SC+ГСБ-214 0,05 мг/кг (n=10)	0,48±0,07	<b>0,48±0,04*</b>
SC+ГСБ-214 0,1 мг/кг (n=9)	0,45±0,07	<b>0,47±0,05*</b>
SC+ГСБ-214 1,0 мг/кг (n=10)	0,33±0,06	0,44±0,08

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

\*\* -  $p < 0,01$ , \* -  $p < 0,05$  по сравнению с группой «SC» (one-way ANOVA, Dunnett test).

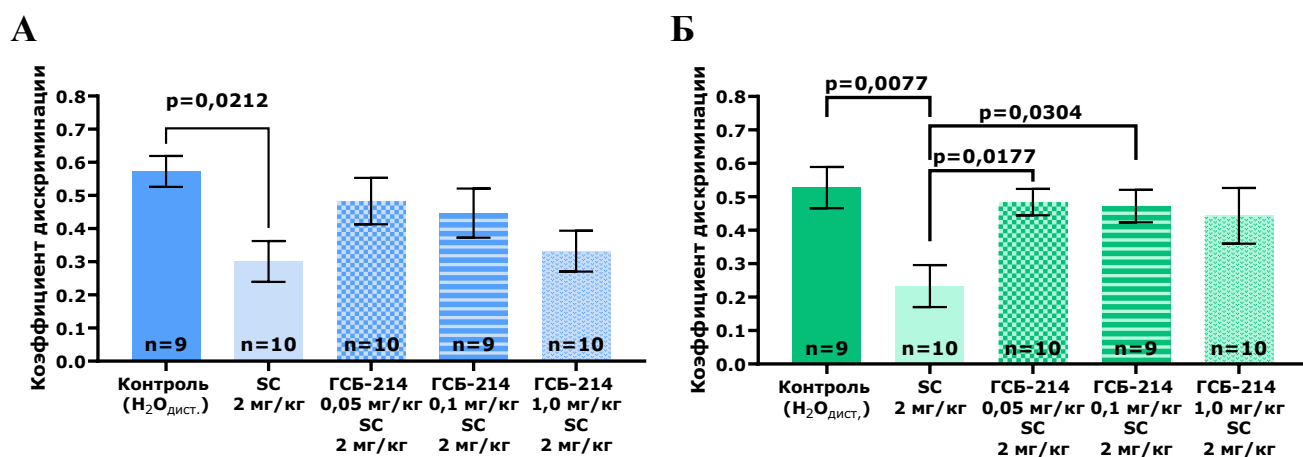


Рисунок 20. Эффекты ГСБ-214 на модели скополаминовой амнезии в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 ч после фазы ознакомления. Б – через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение  $p$  представлено по сравнению с группой «SC 2 мг/кг» (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таблица 11. Эффекты ГСБ-214 на модели скополаминовой амнезии в тесте «Y-лабиринт».

Группа	% чередований	Количество заходов в рукава
Контроль (n=9)	74,6±2,8	13±2,4
SC (n=10)	62,3±9,6	10,8±1
SC+ГСБ-214 0,05 мг/кг (n=10)	71,2±5,5	13±1
SC+ГСБ-214 0,1 мг/кг (n=9)	69,5±4,1	12,1±1,2
SC+ГСБ-214 1,0 мг/кг (n=10)	69,2±3,5	10±0,7

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

### 3.6. 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 (табл. 8, рис. 21А). 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» (табл. 12, рис. 21Б). Ни в одной из исследованных групп не наблюдалось отличий в количестве подходов к исследуемым объектам и времени исследования.

Межгрупповых различий в тесте «У-лабиринт» не наблюдалось (табл. 13).

Таблица 12. Эффекты ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели БА в тесте распознавания нового объекта.

Группа	Коэффициент дискриминации	
	Тест 1 (1 ч)	Тест 1 (24 ч)
Контроль (n=9)	<b>0,46±0,07**</b>	0,49±0,05
STZ (n=7)	0,1±0,08	0,43±0,07
STZ+ГСБ-214 0,1 мг/кг (n=8)	<b>0,48±0,07**</b>	0,48±0,03

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

\*\* -  $p<0,01$  по сравнению с группой «STZ» (one-way ANOVA, Dunnett test).

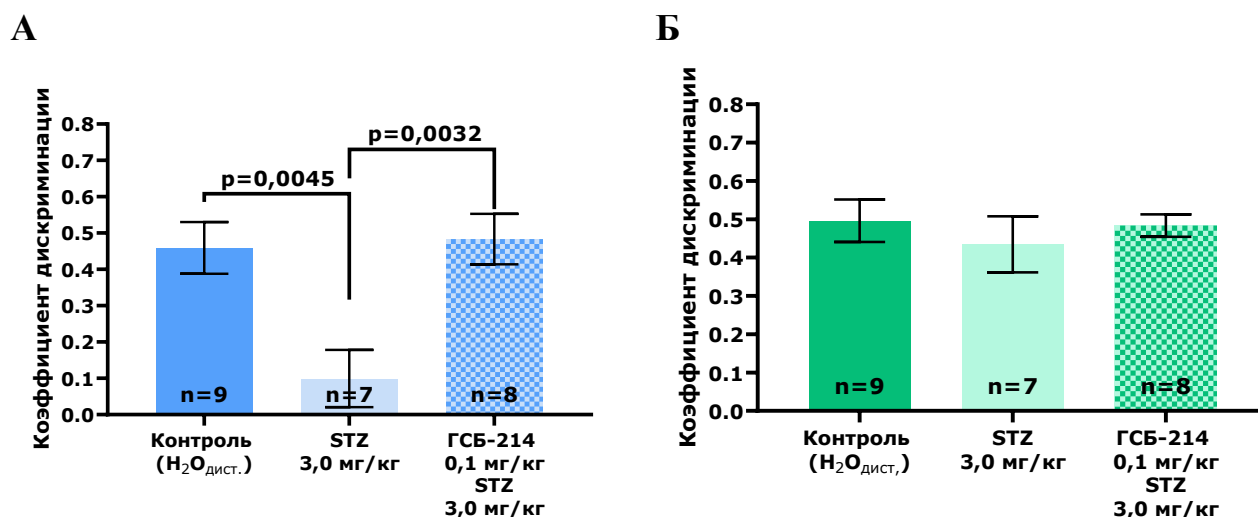


Рисунок 21. Эффекты ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели БА в тесте распознавания нового объекта. А – через 1 ч после фазы ознакомления. Б – через 24 ч после фазы ознакомления. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего. Значение  $p$  представлено по сравнению с группой «STZ» (one-way ANOVA, Dunnett test).

Таблица 13. Эффекты ГСБ-214 на стрептозотоциновой модели БА в тесте «У-лабиринт».

Группа	% чередований	Количество заходов в рукава
Контроль (n=9)	70,24±6,5	10,3±0,8
STZ (n=7)	60,42±5,3	11,43±2,3
STZ+ГСБ-214 0,1 мг/кг (n=8)	68,28±7,1	13,6±2,5

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

Через 21 день после операции не было выявлено межгрупповых различий по иммунореактивности к предшественнику  $\beta$ -амилоида APP в гиппокампе. Иммунореактивность в префронтальной 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. 22).

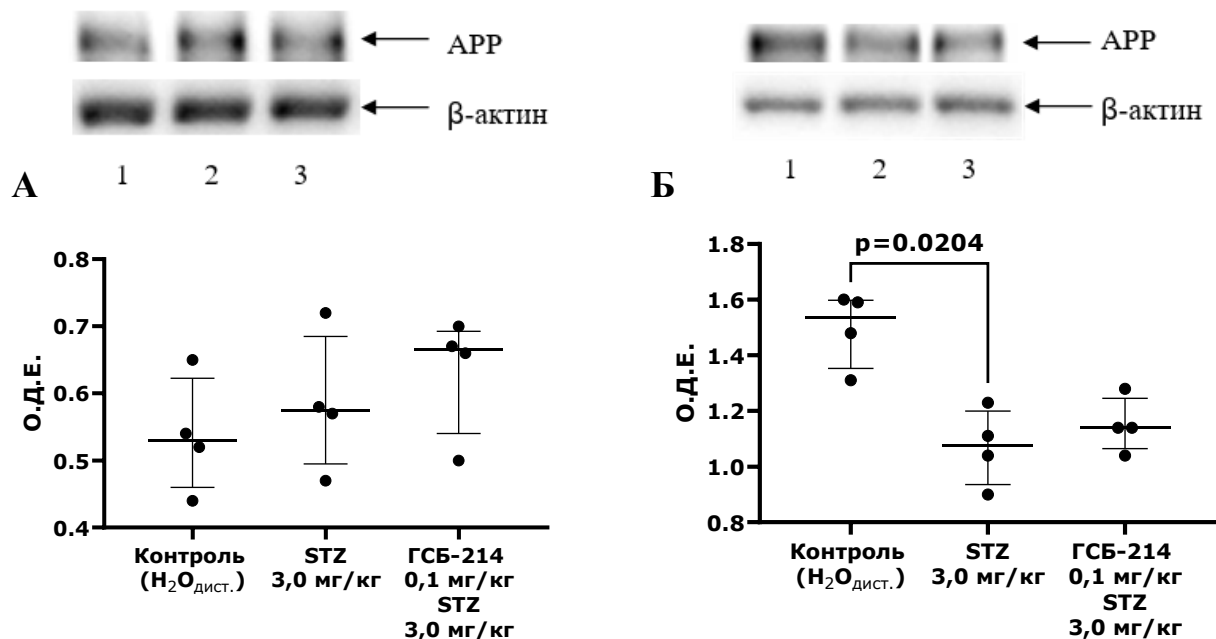


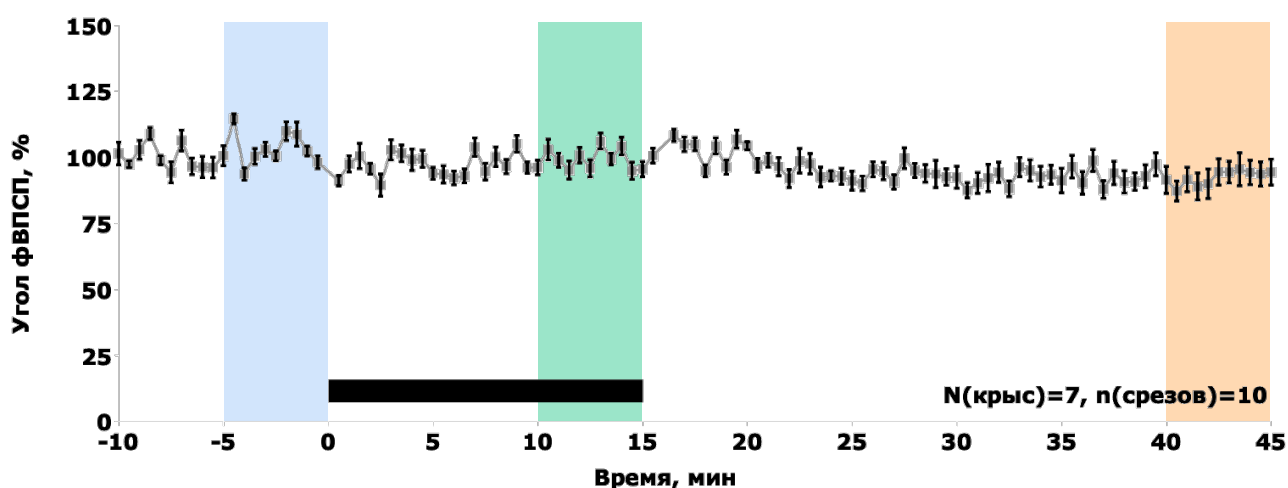
Рисунок 22. Влияние ГСБ-214 на содержание APP в мозге крыс на 21 день после введения STZ. А – в гиппокампе. Б – в префронтальной коре. Дорожки: 1 – Контроль, 2 – STZ, 3 – STZ + ГСБ-214. О.Д.Е. – относительные денситометрические единицы.

Данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов (Kruskal — Wallis test, Dunn test).

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

Апликация 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 апликации составила  $99,12 \pm 2,04\%$  от фонового уровня, а в 25-30 мин отмыва  $93,08 \pm 4,56\%$  (рис. 23).

А



Б

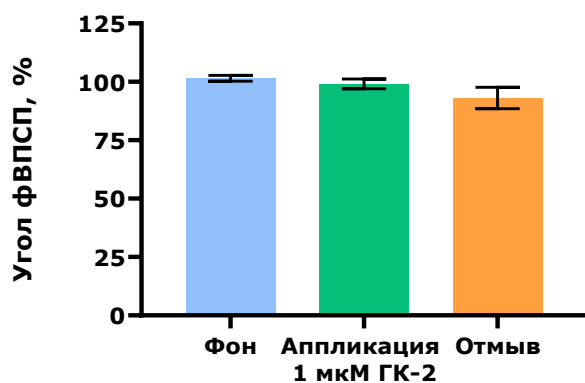


Рисунок 23. Влияние апликации 1 мкМ ГК-2 на фВПСП. А – динамика изменения угла наклона фВПСП в поле CA1 гиппокампа, апликация показана черным прямоугольником. Б – усредненные значения за 5 последних минут. Данные представлены в виде % от фона. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

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 (рис. 24).

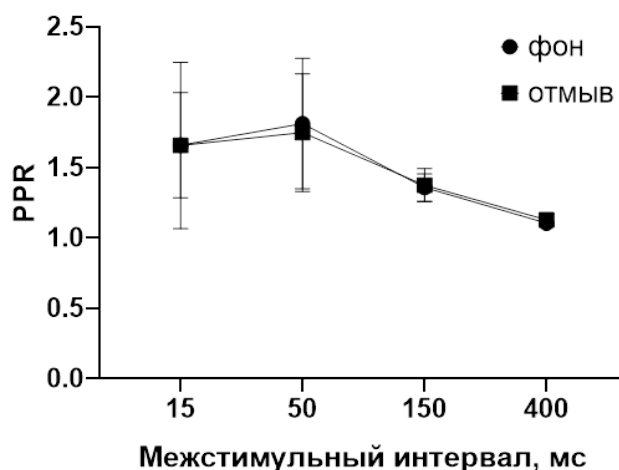


Рисунок 24. Влияние аппликации 1 мкМ ГК-2 на величину PPR,  $N=6$ ,  $n=9$ . Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

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 (рис. 25) и амплитуду фПД (рис. 26). 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.

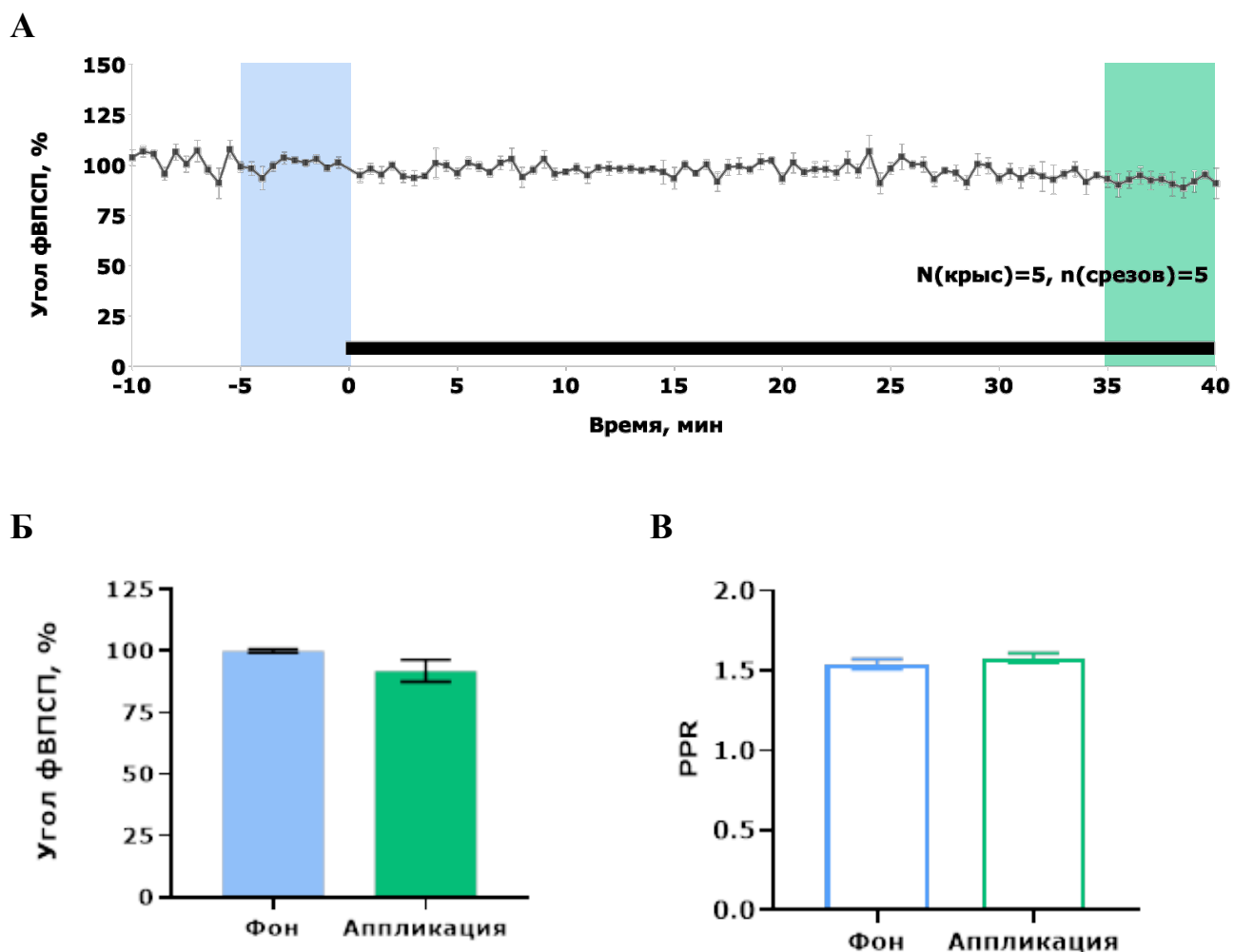


Рисунок 25. Влияние аппликации 1 мкМ ГСБ-214 на фВПСП. А – динамика изменения угла наклона фВПСП в поле СА1 гиппокампа, аппликация показана черным прямоугольником. Б – усредненные значения за 5 последних минут. В – величина PPR, при межстимульном интервале 50 мс.

Данные представлены в виде % от фона. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

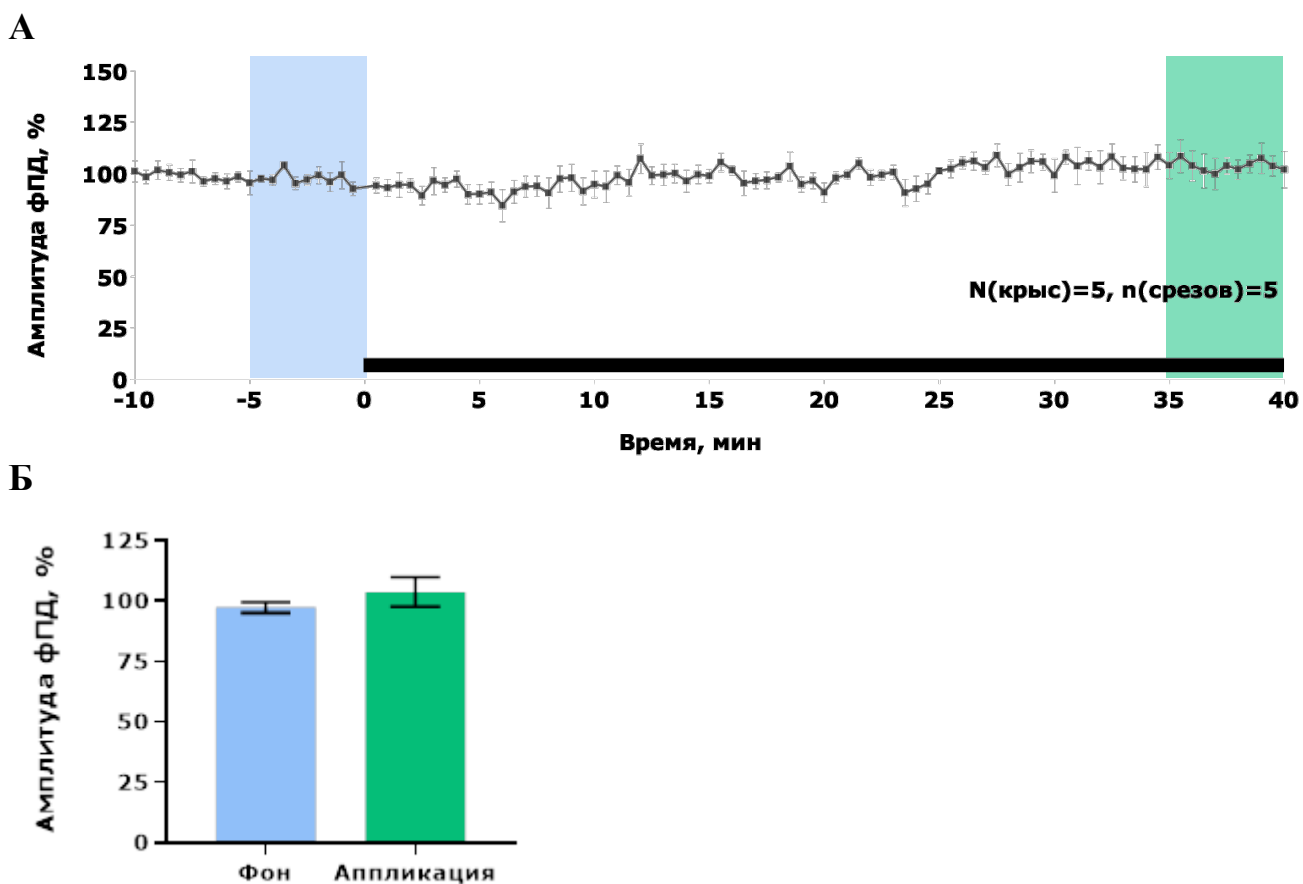


Рисунок 26. Влияние аппликации 1 мкМ ГСБ-214 на фПД. А – динамика изменения амплитуды фПД в поле СА1 гиппокампа, аппликация показана черным прямоугольником. Б – усредненные значения за 5 последних минут. Данные представлены в виде % от фона. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

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 (рис. 27). Однако наблюдался значительный рост амплитуды фПД (рис. 28). 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).

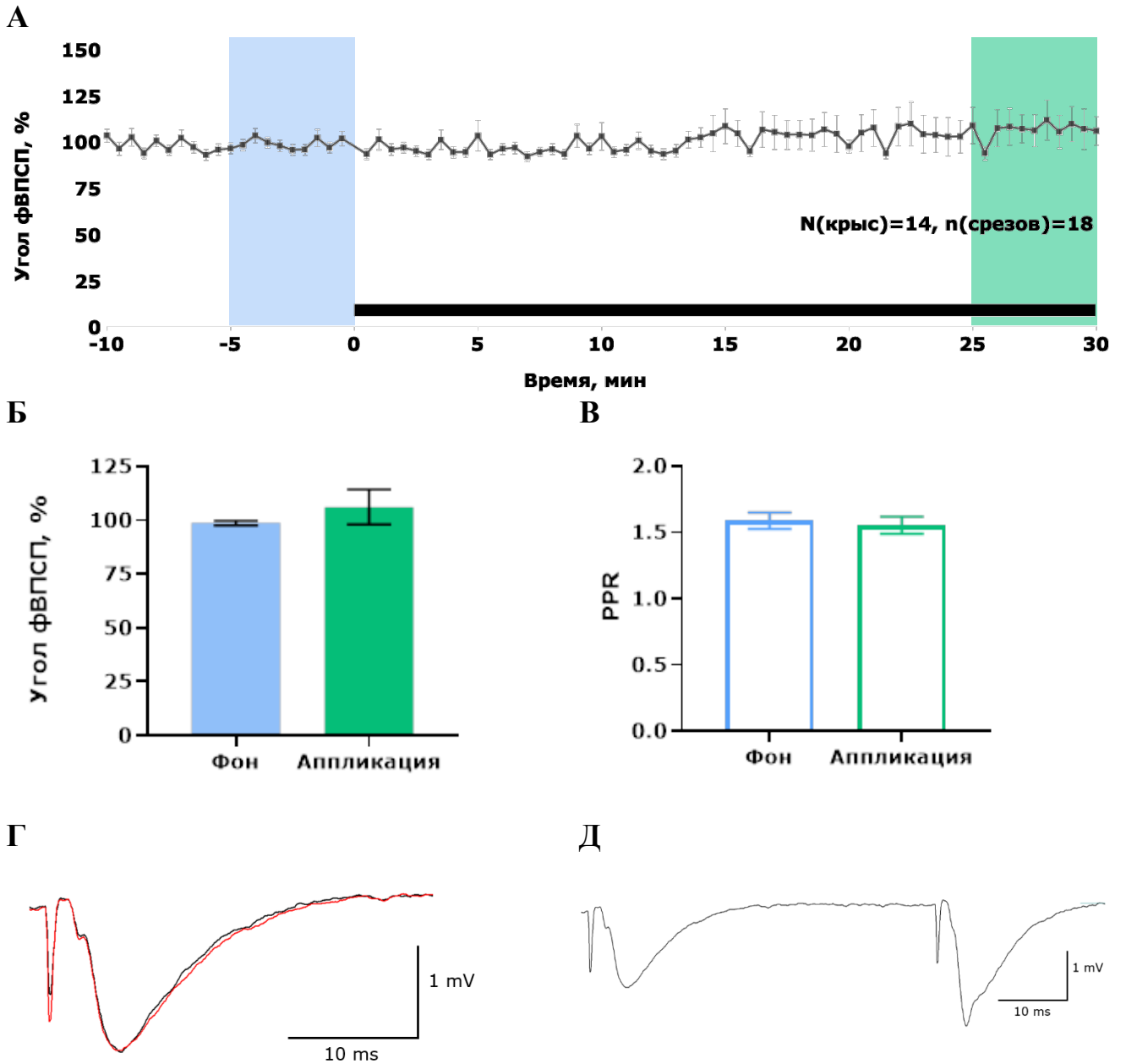
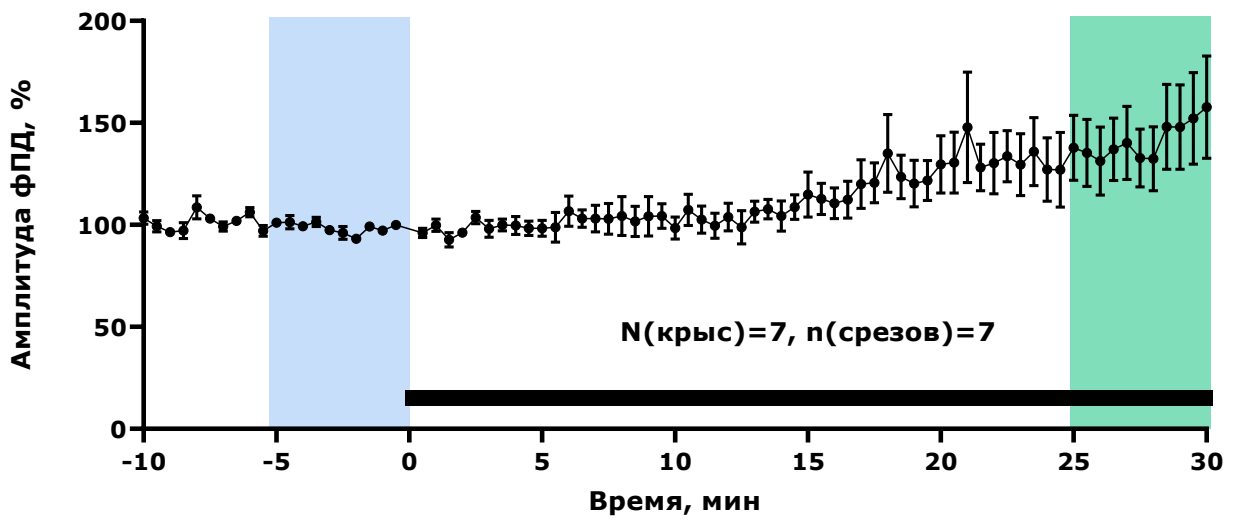


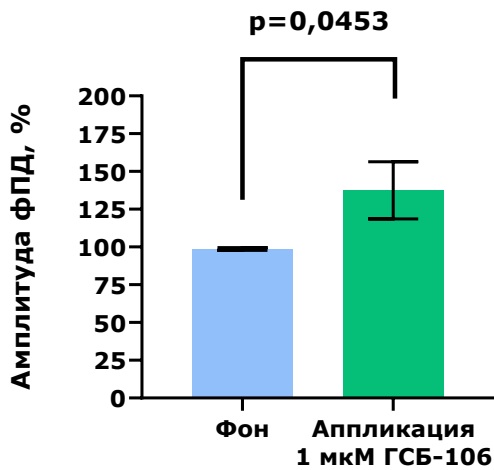
Рисунок 27. Влияние аппликации 1 мкМ ГСБ-106 на фВПСП. А – Динамика изменения угла наклона фВПСП в поле СА1 гиппокампа, аппликация показана черным прямоугольником. Б – Усредненные значения за 5 последних минут. В – величина PPR, при межстимульном интервале 50 мс. Г – Пример фВПСП до (чёрная линия) и после (красная линия) аппликации. Д – Пример фВПСП после двух стимулов с интервалом 50 мс (PPR).

Данные представлены в виде % от фона. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего.

А



Б



В

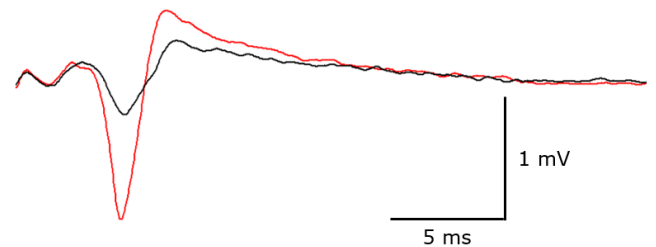


Рисунок 28. Влияние аппликации 1 мкМ ГСБ-106 на фПД. А – Динамика изменения амплитуды фПД в поле СА1 гиппокампа, аппликация показана черным прямоугольником. Б – Усредненные значения за 5 последних минут. В – Пример фВПСП до (чёрная линия) и после (красная линия) аппликации. Данные представлены в виде % от фона. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего (paired t test). В – Пример фПД до (чёрная линия) и после (красная линия) аппликации.



#### 4. 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- $\gamma$ 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 (Horwood 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/AKT 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/AKT и PLC- $\gamma$ 1 при отсутствии активации MAPK/ERK является существенным условием для проявления мнотропной активности миметиками NGF и BDNF, а именно улучшения долговременной памяти. В некоторых исследованиях показано, что в паталогических условиях MAPK/ERK вносит вклад в нейродегенерацию. Так, он участвует в нейровоспалении, запускаемом глиальными клетками при развитии таких заболеваний, как болезни Паркинсона и Альцгеймера, болезнь Хантингтона и боковой амиотрофический склероз, а также прионных заболеваний (Albert-Gascó et al., 2020). IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  являются индукторами MAPK, а активация MAPK в свою очередь приводит к высвобождению большего количества медиаторов воспаления, что в итоге может создать петлю положительной обратной связи и привести к повреждению и смерти нейронов. Кроме того, киназы JNK и ERK способствуют фосфорилированию APP. В клетках нейробластомы, экспрессирующей изоформу APP695, была обнаружена повышенная экспрессия Ras и фосфорилирование ERK. Активация ERK приводила к усилению фосфорилирования как APP, так и тау белка *in vitro* в клетках нейробластомы, экспрессирующей APP. В образцах головного мозга пациентов с БА было обнаружено повышенное фосфорилирование Ras и ERK. На мышинной модели БА (инъекция A $\beta$ 1-42) ингибирование двух MAP-киназ, p38 и JNK, уменьшало A $\beta$ 1-42-индуцированные когнитивные нарушения, окислительный стресс, апоптоз и воспаление (Ahmed et al., 2020). Интересно отметить, что однократное внутрижелудочковое введение полноразмерного NGF улучшало долговременную память крыс в тесте условной реакции активного избегания, не оказывая влияния на кратковременную (Wang et al., 2012). Хроническое внутрижелудочковое введение NGF в течение 42 дней также улучшало долговременную память в тесте распознавания нового объекта (Birch et al., 2013). Однократное внутрижелудочковое введение полноразмерного BDNF приводило к улучшению распознавания нового объекта в тесте через 24 ч после ознакомления (Bechara et al., 2014).

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, меморные 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 мнеморная 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». Литературные данные о влиянии скополамина на параметры, оцениваемые в этих тестах, весьма противоречивы.

Так при однократном введении перед тестом «Открытое поле» скополамин увеличивал двигательную активность крыс в дозе от 0,1 мг/кг (Chintoh et al., 2003; Jafarian et al., 2019; Poorheidari et al., 2002; Thomsen, 2014). Скополамин усиливает высвобождение ацетилхолина в стриатуме при внутрибрюшинном введении в дозе от 2,5 мг/кг (Watanabe et al., 1989), действуя таким образом на холинергические интернейроны, что вызывает выделение дофамина и, как следствие, увеличение

двигательной активности (Thomsen, 2014). Также имеются данные и о снижении локомоторной активности крыс после хронического введения в дозе 2,5 мг/кг/сут (Das et al., 2019; Khan et al., 2020), что может свидетельствовать о его анксиогенных свойствах, так как м-холинорецепторы вовлечены в механизмы тревожности (Je Jeon et al., 2015), кроме того, во время клинических исследований скополамина сообщалось о повышении тревожности у женщин (Nasehi et al., 2019). Скополамин может также повышать тревожность за счет угнетения парасимпатической нервной системы и повышения активности симпатической (Wenner, 2018).

Другие исследователи не наблюдали значимых изменений при введении скополамина в дозе 1 мг/кг (Nigam et al., 2019). Так, не было отмечено значимых изменений в активности крыс в тесте «Открытое поле» и при хроническом введении скополамина в дозе 1 мг/кг/сут (Mostafa et al., 2016b). На результаты могут оказать влияние различные факторы. Например, важно время введения препарата; так, Valuskova с коллегами не наблюдали повышения активности при однократном введении 3 мг/кг скополамина в 9 вечера, в отличие от 9 часов утра (Valuskova et al., 2019). Также сообщается о возможном влиянии окружающей среды (Poorheidari et al., 2002). Кроме того, отмеченное ранее усиление высвобождения ацетилхолина в стриатуме через 4 часа после инъекции скополамина уже не наблюдалось (Watanabe et al., 1989).

Данные относительно поведения животных в открытом поле достаточно противоречивы и нельзя однозначно интерпретировать отсутствие изменений в паттерне поведения, как недостаточную степень когнитивных нарушений.

При введении скополамина в большой дозе (20 мг/кг) перед тестом «ПКЛ» крысы значимо больше времени проводили в закрытых рукавах и совершали меньше выходов в открытые (Jafarian et al., 2019). Такой же эффект наблюдался и при однократном введении меньших доз (0,7 мг/кг) (Bagci et al., 2016), а также при хроническом введении в течение 21 дня в дозе 0,7 мг/кг (Rabiei et al., 2020). Данные результаты, возможно, являются следствием повышения тревожности экспериментальных животных.

С другой стороны, в небольших дозах 4 мкг/кг скополамин проявлял антидепрессантные и противотревожные свойства в клинических исследованиях, причем у мужчин они были выражены сильнее, чем у женщин. Мускариновые рецепторы стимулируют экспрессию гена NMDAR, а повышенная глутаматергическая передача вовлечена в патогенез депрессии (Furey et al., 2006).

В тесте «ПКЛ» ожидалось наблюдение повышенной тревожности у крыс, получавших скополамин, однако все группы животных не продемонстрировали значимого предпочтения темных рукавов или изменений в количестве заходов в рукава. Такой эффект может предположительно объясняться внешними условиями (время инъекции, время проведения теста, сезон), которые вызвали ослабление тревожности, на фоне которого не наблюдался эффект скополамина.

В тест «Т-лабиринт» не было отмечено значимых изменений при дозе меньшей, чем 0,6 мг/кг (все крысы выбирали другой рукав) (Moran, 1993). При хроническом введении 2 мг/кг в течение 21 дня наблюдался дефицит рабочей памяти в тесте спонтанного чередования в Y-лабиринте (Yetunde et al., 2017). Имеются данные о вовлеченности мускариновых рецепторов в механизмы рабочей памяти (Pilcher et al., 1997; Yi et al., 2014). Следует отметить, что при исследовании рабочей памяти в Y-лабиринте, а также радиальном лабиринте, исследователи регистрировали чередование при выборе рукава не единожды, а в течение нескольких минут.

В нашем исследовании введение скополамина вызывало нарушения долговременной памяти в тесте распознавания нового объекта, что согласуется с литературными данными. Так при однократном введении в дозе 0,5 мг/кг скополамин вызывал когнитивные нарушения через 20 мин, но не вызывал через 24 ч (Tinsley et al., 2011), а в дозе 2 мг/кг как через 90 мин, так и через 24 ч (Botton et al., 2010). Также известны исследования, подтверждающие нарушение кратковременной памяти у обезьян, вызванные однократным введением скополамина (Bartus et al., 1976). Предположительно, однократное введение вызывает быстрые, но обратимые нарушения в рабочей памяти, в то время как хроническое затрагивает механизмы формирования долговременной памяти.

Процессы приобретения навыков и консолидации памяти более подвержены влиянию ингибирования холинергических нейронов, чем воспоминание (Agrawal et al., 2009; Das et al., 2003). Длительное введение скополамина (от 1 недели) снижало уровень кальций связывающих белков в гиппокампе, необходимых для синаптической пластичности, а также запоминания (Ahn et al., 2018). Скополамин-опосредованный окислительный стресс может активировать транскрипционные факторы, такие как Sp1 и Sp3 гена DNMT1 и pGR1 гена HDAC2 в результате повышается экспрессия этих генов. В дальнейшем это приводит к снижению ацетилирования гистонов, а также повышению метилирования ДНК, что вызывает снижение экспрессии BDNF и Arc и последующее ухудшение консолидации памяти (Singh et al., 2015).

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  $3\beta$  (GSK- $3\beta$ ), вовлеченной в увеличение продукции  $\beta$ -амилоида и гиперфосфорилирование таубелка (Long et al., 2021). При БА олигомеры  $A\beta$  ингибируют PI3K/Akt каскад, при этом среди мишеней Akt основную роль в нейропротекции играют GSK- $3\beta$  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, внутривенно (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 «Y-лабиринт» межгрупповых различий не наблюдалось. Это соответствует литературным данным о том, что хроническое введение скополамина в дозе 1 мг/кг в течение 5 дней не вызывало изменений в рабочей памяти мышей в тесте «Y-лабиринт» (Zhiling et al., 1996). Однако следует отметить, что однократное введение скополамина мышам в дозе 0,5 мг/кг вызывало снижение спонтанных чередований в Y-лабиринте, вызывая тем самым нарушение рабочей памяти (Kwon et al., 2009). В модифицированном тесте, так называемом V-лабиринте, нарушение вызывало острое введение скополамина в дозе 1,0 мг/кг, но не 0,5 мг/кг (Redrobe et al., 2009). Как уже отмечалось выше, однократное введение скополамина предположительно вызывает обратимые нарушения в рабочей памяти, а хроническое – в долговременной памяти.

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 стрептозотоцин 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 нейропатологических признаков, характерных для БА, таких как аккумуляция  $\beta$ -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 Y-лабиринт.

В условиях стрептозотоциновой модели мы наблюдали нарушения только кратковременной памяти в тесте распознавания нового объекта (в тесте «Y-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.

Ранее на примере другого дипептидного миметика BDNF, ГСБ-106, в экспериментах *in vitro* была подтверждена с помощью фармакологического ингибиторного анализа вовлеченность PI3K/AKT в нейропротекторные эффекты (Zainullina et al., 2021). Также возможным механизмом положительных эффектов ГСБ-214 может быть активация аутофагии в нейронах. Известно, что одним из факторов, способствующих нейродегенерации при БА, является нарушение созревания аутофагосом, т.е. слияния аутофагосом с лизосомами (Uddin et al.,

2018). Полноразмерный BDNF регулирует этот процесс за счет PI3K/АКТ/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/АКТ и PLC- $\gamma$  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 ложнопериоперированных, 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 (Ное 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 (Ное 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, помогающим 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).

В исследовании влияния внутрижелудочкового введения 3 мг/кг STZ трансгенным 3xTg-AD мышам по данным Вестерн-блот анализа STZ статистически значимо снижал уровень A $\beta$ 1–40, не влияя на A $\beta$ 1–42 и APP в гиппокампе (Chen et al., 2014). На модели диабета, вызванного однократной внутривенной инъекцией STZ в дозе 150 мг/кг мышам, наблюдалось значимое увеличение уровня APP в коре и гиппокампе (Liu et al., 2013). Также на этой модели были выявлены изменения в экспрессии генов, связанных с процессингом APP. По данным RT-qPCR экспрессия генов, кодирующих семейство  $\alpha$ -секретазы (*ADAM10* и *ADAM17*),  $\beta$ -секретазы (*BACE1*) и  $\gamma$ -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  $\beta$ -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**

Ранее было показано отсутствие эффекта часовой инкубации переживающих срезов гиппокампа в растворе, содержащем ГК-2 в концентрации 1,5 мг/л, на длительную потенциацию синаптической передачи, рассматриваемую в качестве

основного механизма улучшения кратковременной памяти в поведенческих тестах (Stelmashook et al., 2020). Однако, в этих экспериментах отсутствуют данные о влиянии острого эффекта миметика NGF ГК-2 на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды CA1. В связи с этим 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 интервалом 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 отличные 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 фВПСП. 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 CA3–CA1 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).

Кроме того, имеются данные о влиянии скорости инфузии BDNF на его электрофизиологические эффекты. В срезах гиппокампа, полученных от взрослых (8-недельных) мышей, на базальную синаптическую передачу в CA1 не влияла медленная перфузия (25 мл/ч) BDNF. Напротив, перфузия BDNF с высокой скоростью (240 мл/ч) заметно повышала синаптическую эффективность (достигая  $153 \pm 5\%$  через 175–180 мин). В то же время медленная, но не быстрая перфузия облегчала LTP, вызванную тета вспышками (TBS LTP) (Ji et al., 2010). В нашем исследовании скорость перфузии составила 480 мл/ч, поэтому увеличение амплитуды ответа в части срезов согласуется с литературными данными. Предположительно, низкие и высокие скорости перфузии могут имитировать конститутивный и регулируемый путь секреции BDNF. Быстрое увеличение BDNF

может происходить локально в результате регулируемой секреции, запускаемой интенсивным возбуждением нейронов (Balkowiec et al., 2002; Lessmann et al., 2003). ГСБ-106 активирует Akt и Erk уже через 15 мин после аппликации на культуре клеток HT-22, что быстрее, чем у нативного BDNF (Гудашева и др., 2013), ГСБ-214 также активирует Akt через 15 минут (Гудашева и др., 2015).

Важным моментом в эффектах BDNF является возраст животных. Ни высокая, ни низкая скорость перфузии BDNF не влияли на базовую синаптическую передачу 2-недельных крыс (Ji et al., 2010). BDNF-LTP была значительно снижена у старых (20-24 месяца) крыс по сравнению с молодыми (2-4 месяца) (Gooney et al., 2004). Тем не менее, некоторые исследования показали, что перфузия BDNF не оказывает влияния на базовую синаптическую передачу ни у 2-недельных крыс (Tanaka et al., 1997), ни у 6-8-недельных (Frerking et al., 1998). Другое исследование показывает различное влияние BDNF на TBS LTP у крыс разного возраста. Аппликация BDNF усиливала потенциацию у 10-13 дневных крыс, но не у более молодых, ни у более взрослых не оказала влияния (Figurov et al., 1996). Предполагают, что подобная картина связана с содержанием эндогенного BDNF (во взрослом мозге больше, чем в детском). В контексте нашего исследования на 5-6 недельных животных отсутствие эффектов на части срезов, возможно, может также объясняться разницей в содержании эндогенного BDNF.

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<sup>+</sup> 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).

В литературе имеются противоречивые данные о влиянии аппликации BDNF на PPR. Некоторые исследования свидетельствуют о снижении этого соотношения (Kang et al., 1995; Lemtiri-Chlieh et al., 2010; Mariga et al., 2015), в то время как другие данные говорят об отсутствии эффекта (Andrade-Talavera et al., 2015).

Вклад в синаптическую пластичность может вносить и PLC- $\gamma$ 1 каскад. Активация этого пути напрямую связана с повышением уровня внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> за счет его высвобождения из внутриклеточных запасов и с активацией Ca<sup>2+</sup>-кальмодулинзависимой киназы (CaMKII). Повышение внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> является одним из наиболее важных биохимических результатов передачи сигналов BDNF в постсинаптической клетке. Особенно отметим, данные указывают на то, что Ca<sup>2+</sup>-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<sup>2+</sup> 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- $\gamma$ 1 и MAPK/ERK каскада, но не PI3K/AKT (Mariga et al., 2015).

PLC- $\gamma$ 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  $\gamma$ -аминомасляной кислотой (ГАМК) и глицином (Gly), которые активируют ионные каналы (GABA<sub>A</sub>R и GlyR), делая их проницаемыми для анионов хлорида (Cl<sup>-</sup>) и бикарбоната (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Вклад Cl<sup>-</sup> гораздо более существенный, его гомеостаз поддерживается катион-хлорными котранспортерами (CCC). BDNF подавляет ГАМКергическую передачу в зрелых нейронах, а также подавляет активность K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>-котранспортера 2 (KCC2),

являющегося основной изоформой КСС, экспрессируемой в центральных нейронах (Ferrini et al., 2013). BDNF снижает транскрипцию субъединицы  $\alpha 1$  GABA<sub>A</sub>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 КСС2 (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.

## 5. 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/AKT и PLC- $\gamma$  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 фосфолипазного 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 Ca<sup>+</sup> 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 внутрибрюшинном 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 СА1.
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 ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аврущенко М.Ш., Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Острова И.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на структурно-функциональное состояние мозга в раннем постреанимационном периоде. // *Общая реаниматология*. 2012. Т. 8. №. 5. С. 19–23.
2. Антипова Т.А. Нейропротекторное действие низкомолекулярного пептидного миметика фактора роста нервов NGF ГК-2 связано с активацией синтеза белков теплового шока HSP32 и HSP70 и увеличением фосфорилирования TrkA. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010. Т. 73. №. 12. С. 6–8.
3. Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Помогайбо С.В., Логвинов И.О., Поварнина П.Ю., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора. // *Биоорганическая Химия*. 2012. Т. 38. №. 3. С. 280–290.
4. Гудашева Т.А., Логвинов И.О., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Дипептидный миметик 4-й петли мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 активирует TrkB, Erk, Akt и способствует выживаемости нейронов *in vitro*. // *Доклады Академии наук*. 2013. Т. 451. №. 5. С. 577–580.
5. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Константинопольский М.А., Поварнина П.Ю., Середенин С.Б. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 избирательно активирует пострецепторные пути TrkA, не вызывая побочных действий полноразмерного нейротрофина. // *Доклады Академии наук*. 2014. Т. 456. №. 1. С. 88–91.
6. Гудашева Т.А., Логвинов И.О., Поварнина П.Ю., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Анализ зависимости антидепрессивного действия лигандов рецепторов TrkB от активации MAP-киназного пути. // *Доклады Академии наук*. 2015. Т. 460. №. 3. С. 346–348.
7. Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Сазонова Н.М., Помогайбо С.В., Шумский А.Н., Логвинов И.О., Николаев С.В., Поварнина П.Ю., Константинопольский М.А., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Дизайн, синтез и нейропротекторные эффекты димерного дипептидного миметика 3-й петли фактора роста нервов. // *Биоорганическая химия*. 2017. №. 3. С. 236–249.
8. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Новые низкомолекулярные миметики фактора роста нервов. // *Доклады Академии наук*. 2010. Т. 434. №. 4. С. 549–552.
9. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Бочков П.О., Грибакина О.Г., Шевченко Р.В., Тарасюк А.В., Гудашева Т.А. Фармакокинетика дипептидного миметика BDNF ГСБ-106 у крыс. // *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2019. №. 1. С. 37–43.
10. Иванов С.В., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Дозозависимый эффект миметика фактора роста нервов ГК-2 на модели диабета у

крыс Вистар. // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55. №. 4. С. 11–15.

11. Ковалёв Г.И., Васильева Е.В., Салимов Р.М. Сравнение поведения мышей в тестах открытого поля, закрытого и приподнятого крестообразных лабиринтов с помощью факторного анализа. // Журнал высшей нервной деятельности им И П Павлова. 2019. Т. 69. №. 1. С. 123–130.

12. Колобов В.В., Сторожева З.И. Особенности применения *in vitro*, *in silico* и трансгенных моделей болезни Альцгеймера. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2014. Т. 8. №. 1. С. 34–39.

13. Котов А.С., Елисеев Ю.В., Семенова Е.И. Болезнь Альцгеймера: от теории к практике. // Медицинский совет. 2015. №. 18. С. 41–45.

14. Островская Р.У., Мирзоев Т.Х., Фирова Ф.А. Поведенческий и электрофизиологический анализ холино-позитивного действия ноотропного ацил-пролин дипептида (ГВС-111). // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001. Т. 64. №. 2. С. 11–14.

15. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., Бондаренко Н.А., Середенин С.Б. Антипаркинсонические свойства дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 в экспериментах *in vivo*. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2011. Т. 151. №. 6. С. 634–637.

16. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., Николаев С.В., Антипова Т.А., Островская Р.У., Середенин С.Б. Нейропротекторные эффекты димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 на модели двусторонней необратимой перевязки сонных артерий у крыс. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75. №. 9. С. 15–20.

17. Поварнина П.Ю., Воронцова О.Н., Гудашева Т.А., Островская Р.У., Середенин С.Б. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 восстанавливает нарушенные когнитивные функции в крысиных моделях болезни Альцгеймера. // Acta Naturae (русскоязычная версия). 2013. Т. 5. №. 3 (48).

18. Поварнина П.Ю. Фармакологические свойства оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2 на моделях нейродегенеративных заболеваний и диабета *in vivo*: дис. ... канд. биол. наук: 14.03.06 - НИИ фармакологии имени В. В. Закусова, Москва, 2013 - 156 с.

19. Поварнина П.Ю., Волкова А.А., Гудашева Т.А. Сравнение фармакологических эффектов димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 и мексидола на модели ишемического инсульта у крыс. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017. Т. 164. №. 8. С. 201–204.

20. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Димерные дипептидные миметики 3-й и 4-й петель фактора роста нервов активны на модели ишемического инсульта. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2016. №. 3. С. 34–38.

21. Рогозин П.Д. Роль сигма-1 рецепторов в синаптической пластичности в норме и при ее нарушении, вызванном бета-амилоидным пептидом в



переживающих срезах гиппокампа крысы: дис. ... канд. биол. наук: 03.03.06 - МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 2020 - 125 с.

22. Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., Курилов Д.В., Помогайбо С.В., Гудашева Т.А. Синтез димерного дипептидного миметика фактора роста нервов гк-2, потенциального нейропротективного препарата. // Химико-фармацевтический журнал. 2015. Т. 49. №. 7. С. 10–19.

23. Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., Шумский А.Н., Поварнина П.Ю., Круглов С.В., Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Синтез и биологические свойства нового дипептидного миметика 2-й петли мозгового нейротрофического фактора. // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52. №. 9. С. 14–21.

24. Середенин С.Б., Романова Г.А., Гудашева Т.А., Шакова Ф.М., Барсков И.В., Стельмашук Е.В., Антипова Т.А. Нейропротективное и антиамнестическое действие дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга. // Бюллетень экспериментальной биологии. 2010. Т. 150. №. 10. С. 406–409.

25. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Гудашева Т.А., Гарибова Т.Л., Молодавкин Г.М., Литвинова С.А., Елизарова О.А., Посева В.И. Антидепрессивный эффект оригинального низкомолекулярного миметика BDNF, димерного дипептида ГСБ-106. // Acta Naturae (русскаяязычная версия). 2013. Т. 5. №. 4 (19).

26. Середенин С.Б., Гудашева Т.А. Создание фармакологически активной малой молекулы, обладающей свойствами фактора роста нервов. // Журнал неврологии и психиатрии им.С.С.Корсакова. 2015. №. 6. С. 63–70.

27. Ягубова С.С., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 сохраняет антидиабетическую активность при системном, в том числе пероральном, введении у мышей. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017. Т. 80. №. 8. С. 23–26.

28. Ягубова С.С., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. PI3K/Akt каскад включён в антидиабетическое действие соединения ГСБ-214 низкомолекулярного миметика BDNF. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 169. №. 6. С. 712–715.

29. Ягубова С.С., Золотов Н.Н., Островская Р.У., Гудашева Т.А. Анализ роли PI3K/Akt-сигнального пути в реализации нормализующего влияния низкомолекулярных миметиков NGF и BDNF на показатели активности прооксидантной и антиоксидантной систем на модели диабета у мышей C57BL/6. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2022. Т. 174. №. 8. С. 244–248.

30. Aboukassim T., Tong X.-K., Chung Tse Y., Wong T.-P., Woo S.B., Neet K.E., Brahimi F., Hamel E., Saragovi H.U. Ligand-Dependent TrkA Activity in Brain Differentially Affects Spatial Learning and Long-Term Memory. // Mol. Pharmacol. 2011. V. 80. N. 3. P. 498–508.

31. Abuelezz S.A., Hendawy N. Spotlight on Coenzyme Q10 in scopolamine-induced Alzheimer's disease: oxidative stress/PI3K/AKT/GSK 3 $\beta$ /CREB/BDNF/TrKB. // *J. Pharm. Pharmacol.* 2023. V. 75. N. 8. P. 1119–1129.
32. Acosta D.M.Á.V., Vega B.C., Basurto J.C., Morales L.G.F., Rosales Hernández M.C. Recent Advances by In Silico and In Vitro Studies of Amyloid- $\beta$  1-42 Fibril Depicted a S-Shape Conformation. // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. N. 8. P. 2415.
33. Adjei A.A., Hidalgo M. Intracellular signal transduction pathway proteins as targets for cancer therapy. // *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23. N. 23. P. 5386–403.
34. Afshar S., Shahidi S., Rohani A.H., Komaki A., Asl S.S. The effect of NAD-299 and TCB-2 on learning and memory, hippocampal BDNF levels and amyloid plaques in Streptozotocin-induced memory deficits in male rats. // *Psychopharmacol.* 2018 23510. 2018. V. 235. N. 10. P. 2809–2822.
35. Agholme L., Lindström T., Kågedal K., Marcusson J., Hallbeck M. An In Vitro Model for Neuroscience: Differentiation of SH-SY5Y Cells into Cells with Morphological and Biochemical Characteristics of Mature Neurons. // *J. Alzheimer's Dis.* 2010. V. 20. N. 4. P. 1069–1082.
36. Agrawal R., Tyagi E., Saxena G., Nath C. Cholinergic influence on memory stages: A study on scopolamine amnesic mice. // *Indian J. Pharmacol.* 2009. V. 41. N. 4. P. 192–196.
37. Ahmed T., Zulfiqar A., Arguelles S., Rasekhian M., Nabavi S.F., Silva A.S., Nabavi S.M. Map kinase signaling as therapeutic target for neurodegeneration. // *Pharmacol. Res.* 2020. V. 160. P. 105090.
38. Ahn J.H., Chen B.H., Yan B.C., Park J.H., Kang I.J., Lee T.K., Cho J.H., Shin B.N., Lee J.C., Jeon Y.H., Hong S., Lee Y.J., Choi S.Y., Won M.H. Effects of long-term scopolamine treatment on cognitive deficits and calcium binding proteins immunoreactivities in the mouse hippocampus. // *Mol. Med. Rep.* 2018. V. 17. N. 1. P. 293–299.
39. Akirav I., Maroun M. Ventromedial Prefrontal Cortex Is Obligatory for Consolidation and Reconsolidation of Object Recognition Memory. // *Cereb. Cortex.* 2005. V. 16. N. 12. P. 1759–1765.
40. Albert-Gascó H., Ros-Bernal F., Castillo-Gómez E., Olucha-Bordonau F.E. MAP/ERK Signaling in Developing Cognitive and Emotional Function and Its Effect on Pathological and Neurodegenerative Processes. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. N. 12. P. 4471.
41. Aloe L., Rocco M.L., Bianchi P., Manni L. Nerve growth factor: from the early discoveries to the potential clinical use. // *J. Transl. Med.* 2012. V. 10. N. 1. P. 239.
42. Aloe L. The First and Last Time I Met Rita Levi-Montalcini: From the Insect Neurotrophic Factor to the Nerve Growth Factor Clinical Application. C. 11–18.
43. Alvarez J., Alvarez-Illera P., Santo-Domingo J., Fonteriz R.I., Montero M. Modeling Alzheimer's Disease in *Caenorhabditis elegans*. // *Biomedicines.* 2022. V. 10.

N. 2. P. 288.

44. Alzheimer's Association. 2019 Alzheimer's disease facts and figures. // *Alzheimer's Dement.* 2019. V. 15. N. 3. P. 321–387.

45. Amidfar M., Oliveira J. de, Kucharska E., Budni J., Kim Y.K. The role of CREB and BDNF in neurobiology and treatment of Alzheimer's disease // *Life Sci.* 2020. T. 257. C. 118020.

46. Andrade-Talavera Y., Benito I., Casañas J.J., Rodríguez-Moreno A., Montesinos M.L. Rapamycin restores BDNF-LTP and the persistence of long-term memory in a model of Down's syndrome. // *Neurobiol. Dis.* 2015. V. 82. P. 516–525.

47. Andrews S.J., Fulton-Howard B., Goate A. Interpretation of risk loci from genome-wide association studies of Alzheimer's disease. // *Lancet Neurol.* 2020. V. 19. N. 4. P. 326–335.

48. Antunes M., Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. // *Cogn. Process.* 2012. V. 13. N. 2. P. 93–110.

49. Arancibia S., Silhol M., Moulière F., Meffre J., Höllinger I., Maurice T., Tapia-Arancibia L. Protective effect of BDNF against beta-amyloid induced neurotoxicity in vitro and in vivo in rats. // *Neurobiol. Dis.* 2008. V. 31. N. 3. P. 316–326.

50. Arévalo J.C., Wu S.H. Neurotrophin signaling: many exciting surprises! // *Cell. Mol. Life Sci.* 2006. V. 63. N. 13. P. 1523–1537.

51. Arias E.R., Valle-Leija P., Morales M.A., Cifuentes F. Differential contribution of BDNF and NGF to long-term potentiation in the superior cervical ganglion of the rat. // *Neuropharmacology.* 2014. V. 81. P. 206–214.

52. Arnsten A.F.T., Datta D., Tredici K. Del, Braak H. Hypothesis: Tau pathology is an initiating factor in sporadic Alzheimer's disease. // *Alzheimer's Dement.* 2021. V. 17. N. 1. P. 115–124.

53. Arvanitakis Z., Wilson R.S., Bienias J.L., Evans D.A., Bennett D.A. Diabetes Mellitus and Risk of Alzheimer Disease and Decline in Cognitive Function. // *Arch. Neurol.* 2004. V. 61. N. 5. P. 661.

54. Asai M., Iwata N., Tomita T., Iwatsubo T., Ishiura S., Saido T.C., Maruyama K. Efficient four-drug cocktail therapy targeting amyloid- $\beta$  peptide for Alzheimer's disease. // *J. Neurosci. Res.* 2010. V. 88. N. 16. P. 3588–3597.

55. Aykac A., Ozbeyli D., Uncu M., Ertaş B., Kılınc O., Şen A., Orun O., Sener G. Evaluation of the protective effect of *Myrtus communis* in scopolamine-induced Alzheimer model through cholinergic receptors. // *Gene.* 2019. V. 689. P. 194–201.

56. Aytan N., Choi J.K., Carreras I., Crabtree L., Nguyen B., Lehar M., Blusztajn J.K., Jenkins B.G., Dedeoglu A. Protective effects of 7,8-dihydroxyflavone on neuropathological and neurochemical changes in a mouse model of Alzheimer's disease. // *Eur. J. Pharmacol.* 2018. V. 828. P. 9.

57. Azarafrouz F., Farhangian M., Chavoshinezhad S., Dargahi S., Nassiri-Asl M.,

Dargahi L. Interferon beta attenuates recognition memory impairment and improves brain glucose uptake in a rat model of Alzheimer's disease: Involvement of mitochondrial biogenesis and PI3K pathway. // *Neuropeptides*. 2022. V. 95. P. 102262.

58. Bagci E., Aydin E., Ungureanu E., Hritcu L. Anthriscus nemorosa essential oil inhalation prevents memory impairment, anxiety and depression in scopolamine-treated rats. // *Biomed. Pharmacother.* 2016. V. 84. P. 1313–1320.

59. Baiardi S., Abu-Rumeileh S., Rossi M., Zenesini C., Bartoletti-Stella A., Polischi B., Capellari S., Parchi P. Antemortem CSF A  $\beta$  42/A  $\beta$  40 ratio predicts Alzheimer's disease pathology better than A  $\beta$  42 in rapidly progressive dementias. // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2018. V. 6. N. 2. P. acn3.697.

60. Balkowiec A., Katz D.M. Cellular Mechanisms Regulating Activity-Dependent Release of Native Brain-Derived Neurotrophic Factor from Hippocampal Neurons. // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. N. 23. P. 10399–10407.

61. Bandyopadhyay S., Goldstein L., Lahiri D., Rogers J. Role of the APP Non-Amyloidogenic Signaling Pathway and Targeting  $\alpha$ -Secretase as an Alternative Drug Target for Treatment of Alzheimers Disease. // *Curr. Med. Chem.* 2007. V. 14. N. 27. P. 2848–2864.

62. Baranowski B.J., Hayward G.C., Marko D.M., MacPherson R.E.K. Examination of BDNF Treatment on BACE1 Activity and Acute Exercise on Brain BDNF Signaling. // *Front. Cell. Neurosci.* 2021. V. 15.

63. Baranowski B.J., Mohammad A., Finch M.S., Brown A., Dhaliwal R., Marko D.M., LeBlanc P.J., McCormick C.M., Fajardo V.A., MacPherson R.E.K. Exercise training and BDNF injections alter amyloid precursor protein (APP) processing enzymes and improve cognition. // *J. Appl. Physiol.* 2023. V. 135. N. 1. P. 121–135.

64. Bard F., Cannon C., Barbour R., Burke R.-L., Games D., Grajeda H., Guido T., Hu K., Huang J., Johnson-Wood K., Khan K., Kholodenko D., Lee M., Lieberburg I., Motter R., Nguyen M., Soriano F., Vasquez N., Weiss K., Welch B., Seubert P., Schenk D., Yednock T. Peripherally administered antibodies against amyloid  $\beta$ -peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. // *Nat. Med.* 2000. V. 6. N. 8. P. 916–919.

65. Barde Y.A., Edgar D., Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. // *EMBO J.* 1982. V. 1. N. 5. P. 549–53.

66. Bartus R.T. On Neurodegenerative Diseases, Models, and Treatment Strategies: Lessons Learned and Lessons Forgotten a Generation Following the Cholinergic Hypothesis. // *Exp. Neurol.* 2000. V. 163. N. 2. P. 495–529.

67. Bartus R.T., Johnson H.R. Short-term memory in the rhesus monkey: Disruption from the anti-cholinergic scopolamine. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1976. V. 5. N. 1. P. 39–46.

68. Bassani T.B., Turnes J.M., Moura E.L.R., Bonato J.M., Cópola-Segovia V., Zanata S.M., Oliveira R.M.M.W., Vital M.A.B.F. Effects of curcumin on short-term

spatial and recognition memory, adult neurogenesis and neuroinflammation in a streptozotocin-induced rat model of dementia of Alzheimer's type. // *Behav. Brain Res.* 2017. V. 335. P. 41–54.

69. Bathina S., Das U.N. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. // *Arch. Med. Sci.* 2015. V. 11. N. 6. P. 1164–78.

70. Bax B., Blundell T.L., Murray-Rust J., McDonald N.Q. Structure of mouse 7S NGF: a complex of nerve growth factor with four binding proteins. // *Structure.* 1997. V. 5. N. 10. P. 1275–85.

71. Bazzari F.H., Bazzari A.H. BACE1 Inhibitors for Alzheimer's Disease: The Past, Present and Any Future? // *Molecules.* 2022. V. 27. N. 24. P. 8823.

72. Bechara R.G., Lyne R., Kelly Á.M. BDNF-stimulated intracellular signalling mechanisms underlie exercise-induced improvement in spatial memory in the male Wistar rat. // *Behav. Brain Res.* 2014. V. 275. P. 297–306.

73. Bekdash R.A. The Cholinergic System, the Adrenergic System and the Neuropathology of Alzheimer's Disease. // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. N. 3. P. 1273.

74. Beldjoud H., Barsegyan A., Roozendaal B. Noradrenergic activation of the basolateral amygdala enhances object recognition memory and induces chromatin remodeling in the insular cortex. // *Front. Behav. Neurosci.* 2015. V. 9. P. 108.

75. Bellenguez C., Charbonnier C., Grenier-Boley B., Quenez O., Guennec K. Le, Jurici S., et al. Contribution to Alzheimer's disease risk of rare variants in TREM2, SORL1, and ABCA7 in 1779 cases and 1273 controls. // *Neurobiol. Aging.* 2017. V. 59. P. 220.e1-220.e9.

76. Benedikz E., Kloskowska E., Winblad B. The rat as an animal model of Alzheimer's disease. // *J. Cell. Mol. Med.* 2009. V. 13. N. 6. P. 1034–1042.

77. Bhuvanendran S., Kumari Y., Othman I., Shaikh M.F. Amelioration of Cognitive Deficit by Embelin in a Scopolamine-Induced Alzheimer's Disease-Like Condition in a Rat Model. // *Front. Pharmacol.* 2018. V. 9. P. 665.

78. Binder D.K., Scharfman H.E. Brain-derived neurotrophic factor. // *Growth Factors.* 2004. V. 22. N. 3. P. 123–31.

79. Birch A.M., Kelly Á.M. Chronic intracerebroventricular infusion of nerve growth factor improves recognition memory in the rat. // *Neuropharmacology.* 2013. V. 75. P. 255–261.

80. Blass J.P., Gleason P., Brush D., DiPonte P., Thaler H. Thiamine and Alzheimer's disease. A pilot study. // *Arch. Neurol.* 1988. V. 45. N. 8. P. 833–5.

81. Bliss T.V.P., Collingridge G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. // *Nature.* 1993. V. 361. N. 6407. P. 31–39.

82. Bliss T.V.P., Lømo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. // *J. Physiol.* 1973. V. 232. N. 2. P. 331–356.

83. Bohmwald K., Andrade C.A., Mora V.P., Muñoz J.T., Ramírez R., Rojas M.F., Kalergis A.M. Neurotrophin Signaling Impairment by Viral Infections in the Central Nervous System. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. N. 10. P. 5817.
84. Bollen E., Vanmierlo T., Akkerman S., Wouters C., Steinbusch H.M.W., Prickaerts J. 7,8-Dihydroxyflavone improves memory consolidation processes in rats and mice. // *Behav. Brain Res.* 2013. V. 257. P. 8–12.
85. Bomfim T.R., Forny-Germano L., Sathler L.B., Brito-Moreira J., Houzel J.-C., Decker H., Silverman M.A., Kazi H., Melo H.M., McClean P.L., Holscher C., Arnold S.E., Talbot K., Klein W.L., Munoz D.P., Ferreira S.T., Felice F.G. De. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease-associated A $\beta$  oligomers. // *J. Clin. Invest.* 2012. V. 122. N. 4. P. 1339–1353.
86. Bon Y.I., Zimatkin S.M. STRUCTURE AND DEVELOPMENT OF THE RAT HYPPOCAMPUS. // *J. Grodno State Med. Univ.* 2018. V. 16. N. 2. P. 132–138.
87. Bosco D., Fava A., Plastino M., Montalcini T., Pujia A. Possible implications of insulin resistance and glucose metabolism in Alzheimer's disease pathogenesis. // *J. Cell. Mol. Med.* 2011. V. 15. N. 9. P. 1807–1821.
88. Botton P.H., Costa M.S., Ardais A.P., Mioranza S., Souza D.O., Rocha J.B.T. da, Porciúncula L.O. Caffeine prevents disruption of memory consolidation in the inhibitory avoidance and novel object recognition tasks by scopolamine in adult mice. // *Behav. Brain Res.* 2010. V. 214. N. 2. P. 254–259.
89. Bouleau S., Tricoire H. Drosophila Models of Alzheimer's Disease: Advances, Limits, and Perspectives. // *J. Alzheimer's Dis.* 2015. V. 45. N. 4. P. 1015–1038.
90. Bramham C.R., Alme M.N., Bittins M., Kuipers S.D., Nair R.R., Pai B., Panja D., Schubert M., Soule J., Tiron A., Wibrand K. The Arc of synaptic memory. // *Exp. Brain Res.* 2010. V. 200. N. 2. P. 125–140.
91. Brewster J.T., Dell'Acqua S., Thach D.Q., Sessler J.L. Classics in Chemical Neuroscience: Donepezil. // *ACS Chem. Neurosci.* 2019. V. 10. N. 1. P. 155–167.
92. Brouwers N., Slegers K., Broeckhoven C. Van. Molecular genetics of Alzheimer's disease: An update. // *Ann. Med.* 2008. V. 40. N. 8. P. 562–583.
93. Brunetti L., Laghezza A., Loiodice F., Tortorella P., Piemontese L. Combining fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition with peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) activation: a new potential multi-target therapeutic strategy for the treatment of Alzheimer's disease. // *Neural Regen. Res.* 2020. V. 15. N. 1. P. 67.
94. Bruno M.A., Clarke P.B.S., Seltzer A., Quirion R., Burgess K., Cuello A.C., Saragovi H.U. Long-Lasting Rescue of Age-Associated Deficits in Cognition and the CNS Cholinergic Phenotype by a Partial Agonist Peptidomimetic Ligand of TrkA. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. N. 37. P. 8009–8018.
95. Buchman A.S., Yu L., Boyle P.A., Schneider J.A., Jager P.L. De, Bennett D.A. Higher brain BDNF gene expression is associated with slower cognitive decline in older adults. // *Neurology.* 2016. V. 86. N. 8. P. 735–741.

96. Burke S.N., Wallace J.L., Hartzell A.L., Nematollahi S., Plange K., Barnes C.A. Age-associated deficits in pattern separation functions of the perirhinal cortex: A cross-species consensus. // *Behav. Neurosci.* 2011. V. 125. N. 6. P. 836–847.
97. Butterfield D.A., Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2019. V. 20. N. 3. P. 148–160.
98. Cacace R., Slegers K., Broeckhoven C. Van. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. // *Alzheimer's Dement.* 2016. V. 12. N. 6. P. 733–748.
99. Caccamo A., Oddo S., Billings L.M., Green K.N., Martinez-Coria H., Fisher A., LaFerla F.M. M1 Receptors Play a Central Role in Modulating AD-like Pathology in Transgenic Mice. // *Neuron.* 2006. V. 49. N. 5. P. 671–682.
100. Cajal S.R. 1955. *Studies on the cerebral cortex: limbic structures.* : Year Book Publishers.
101. Calabrese E. Hormesis: Path and Progression to Significance. // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. N. 10. P. 2871.
102. Calabrese E.J. Hormesis and medicine. // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2008. V. 66. N. 5. P. 594–617.
103. Calabrò M., Rinaldi C., Santoro G., Crisafulli C. The biological pathways of Alzheimer disease: a review. // *AIMS Neurosci.* 2021. V. 8. N. 1. P. 86–132.
104. Caldeira M. V., Melo C. V., Pereira D.B., Carvalho R., Correia S.S., Backos D.S., Carvalho A.L., Esteban J.A., Duarte C.B. Brain-derived Neurotrophic Factor Regulates the Expression and Synaptic Delivery of  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole Propionic Acid Receptor Subunits in Hippocampal Neurons. // *J. Biol. Chem.* 2007a. V. 282. N. 17. P. 12619–12628.
105. Caldeira M. V., Melo C. V., Pereira D.B., Carvalho R.F., Carvalho A.L., Duarte C.B. BDNF regulates the expression and traffic of NMDA receptors in cultured hippocampal neurons. // *Mol. Cell. Neurosci.* 2007b. V. 35. N. 2. P. 208–219.
106. Calsolaro V., Edison P. Alterations in Glucose Metabolism in Alzheimer's Disease. // *Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov.* 2016. V. 10. N. 1. P. 31–39.
107. Champion D., Charbonnier C., Nicolas G. SORL1 genetic variants and Alzheimer disease risk: a literature review and meta-analysis of sequencing data. // *Acta Neuropathol.* 2019. V. 138. N. 2. P. 173–186.
108. Canet G., Zussy C., Hernandez C., Maurice T., Desrumaux C., Givalois L. The pathomimetic  $\alpha\beta$ 25–35 model of Alzheimer's disease: Potential for screening of new therapeutic agents. // *Pharmacol. Ther.* 2023. V. 245. P. 108398.
109. Canter R.G., Penney J., Tsai L.H. The road to restoring neural circuits for the treatment of Alzheimer's disease. // *Nature.* 2016. V. 539. N. 7628. P. 187–196.
110. Capsoni S., Ugolini G., Comparini A., Ruberti F., Berardi N., Cattaneo A.

Alzheimer-like neurodegeneration in aged antineurite growth factor transgenic mice. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000. V. 97. N. 12. P. 6826–6831.

111. Capsoni S., Brandi R., Arisi I., D'Onofrio M., Cattaneo A. A Dual Mechanism Linking NGF/proNGF Imbalance and Early Inflammation to Alzheimer's Disease Neurodegeneration in the AD11 Anti-NGF Mouse Model. // *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets.* 2011. V. 10. N. 5. P. 635–647.

112. Capsoni S., Cattaneo A. On the Molecular Basis Linking Nerve Growth Factor (NGF) to Alzheimer's Disease. // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2006. V. 26. N. 4–6. P. 617–631.

113. Cardenas-Aguayo M. del C., Kazim S.F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K. Neurogenic and Neurotrophic Effects of BDNF Peptides in Mouse Hippocampal Primary Neuronal Cell Cultures. // *PLoS One.* 2013. V. 8. N. 1. P. e53596.

114. Cassidy L., Fernandez F., Johnson J.B., Naiker M., Owoola A.G., Broszczak D.A. Oxidative stress in Alzheimer's disease: A review on emergent natural polyphenolic therapeutics. // *Complement. Ther. Med.* 2020. V. 49. P. 102294.

115. Castle M.J., Baltanás F.C., Kovacs I., Nagahara A.H., Barba D., Tuszynski M.H. Postmortem Analysis in a Clinical Trial of AAV2-NGF Gene Therapy for Alzheimer's Disease Identifies a Need for Improved Vector Delivery. // *Hum. Gene Ther.* 2020. V. 31. N. 7–8. P. 415–422.

116. Cattaneo A., Capsoni S., Paoletti F. Towards Non Invasive Nerve Growth Factor Therapies for Alzheimer's Disease. // *J. Alzheimer's Dis.* 2008. V. 15. N. 2. P. 255–283.

117. Ceni C., Unsain N., Zeinieh M.P., Barker P.A. Neurotrophins in the regulation of cellular survival and death. // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014. V. 220. P. 193–221.

118. Ceyzeriat K., Zilli T., Millet P., Frisoni G.B., Garibotto V., Tournier B.B. Learning from the Past: A Review of Clinical Trials Targeting Amyloid, Tau and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. // *Curr. Alzheimer Res.* 2020. V. 17. N. 2. P. 112–125.

119. Chakravarty S., Maitra S., Reddy R.G., Das T., Jhelum P., Kootar S., Rajan W.D., Samanta A., Samineni R., Pabbaraja S., Kernie S.G., Mehta G., Kumar A. A novel natural product inspired scaffold with robust neurotrophic, neurogenic and neuroprotective action. // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. N. 1. P. 14134.

120. Chater T.E., Goda Y. My Neighbour Hetero — deconstructing the mechanisms underlying heterosynaptic plasticity. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2021. V. 67. P. 106–114.

121. Cheignon C., Tomas M., Bonnefont-Rousselot D., Faller P., Hureau C., Collin F. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. // *Redox Biol.* 2018. V. 14. P. 450–464.

122. Chen A., Xiong L.-J., Tong Y., Mao M. Neuroprotective effect of brain-derived neurotrophic factor mediated by autophagy through the PI3K/Akt/mTOR



pathway. // *Mol. Med. Rep.* 2013a. V. 8. N. 4. P. 1011–1016.

123. Chen G., Xu T., Yan Y., Zhou Y., Jiang Y., Melcher K., Xu H.E. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. // *Acta Pharmacol. Sin.* 2017. V. 38. N. 9. P. 1205–1235.

124. Chen J., Chua K.-W., Chua C.C., Yu H., Pei A., Chua B.H.L., Hamdy R.C., Xu X., Liu C.-F. Antioxidant activity of 7,8-dihydroxyflavone provides neuroprotection against glutamate-induced toxicity. // *Neurosci. Lett.* 2011. V. 499. N. 3. P. 181–185.

125. Chen W.N., Yeong K.Y. Scopolamine, a Toxin-Induced Experimental Model, Used for Research in Alzheimer's Disease. // *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets.* 2020. V. 19. N. 2. P. 85–93.

126. Chen X.-Q., Mobley W.C. Exploring the Pathogenesis of Alzheimer Disease in Basal Forebrain Cholinergic Neurons: Converging Insights From Alternative Hypotheses. // *Front. Neurosci.* 2019. V. 13.

127. Chen Y., Liang Z., Blanchard J., Dai C.-L., Sun S., Lee M.H., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Liu F., Gong C.-X. A Non-transgenic Mouse Model (icv-STZ Mouse) of Alzheimer's Disease: Similarities to and Differences from the Transgenic Model (3xTg-AD Mouse). // *Mol. Neurobiol.* 2013b. V. 47. N. 2. P. 711–725.

128. Chen Y., Liang Z., Tian Z., Blanchard J., Dai C., Chalbot S., Iqbal K., Liu F., Gong C.-X. Intracerebroventricular Streptozotocin Exacerbates Alzheimer-Like Changes of 3xTg-AD Mice. // *Mol. Neurobiol.* 2014. V. 49. N. 1. P. 547–562.

129. Chen Z.-R., Huang J.-B., Yang S.-L., Hong F.-F. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. // *Molecules.* 2022. V. 27. N. 6. P. 1816.

130. Chen Z., Zhong C. Decoding Alzheimer's disease from perturbed cerebral glucose metabolism: Implications for diagnostic and therapeutic strategies. // *Prog. Neurobiol.* 2013c. V. 108. P. 21–43.

131. Chintoh A., Fulton J., Koziel N., Aziz M., Sud M., Yeomans J.S. Role of cholinergic receptors in locomotion induced by scopolamine and oxotremorine-M. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2003. V. 76. N. 1. P. 53–61.

132. Chistiakova M., Bannon N.M., Bazhenov M., Volgushev M. Heterosynaptic Plasticity. // *Neurosci.* 2014. V. 20. N. 5. P. 483–498.

133. Cho S., Wood A., Bowlby M. Brain Slices as Models for Neurodegenerative Disease and Screening Platforms to Identify Novel Therapeutics. // *Curr. Neuropharmacol.* 2007. V. 5. N. 1. P. 19–33.

134. Choi D.-Y., Toledo-Aral J.J., Segal R., Haleboua S. Sustained Signaling by Phospholipase C- $\gamma$  Mediates Nerve Growth Factor-Triggered Gene Expression. // *Mol. Cell. Biol.* 2001. V. 21. N. 8. P. 2695–2705.

135. Choi Y.J., Chae S., Kim J.H., Barald K.F., Park J.Y., Lee S.-H. Neurotoxic amyloid beta oligomeric assemblies recreated in microfluidic platform with interstitial level of slow flow. // *Sci. Rep.* 2013. V. 3. N. 1. P. 1921.

136. Ciafrè S., Ferraguti G., Tirassa P., Iannitelli A., Ralli M., Greco A., Chaldakov G.N., Rosso P., Fico E., Messina M.P., Carito V., Tarani L., Ceccanti M., Fiore M. Nerve growth factor in the psychiatric brain. // *Riv. Psichiatr.* 2020. V. 55. N. 1. P. 4–15.
137. Cirillo G., Colangelo A.M., Bianco M.R., Cavaliere C., Zaccaro L., Sarmientos P., Alberghina L., Papa M. BB14, a Nerve Growth Factor (NGF)-like peptide shown to be effective in reducing reactive astrogliosis and restoring synaptic homeostasis in a rat model of peripheral nerve injury. // *Biotechnol. Adv.* 2012. V. 30. N. 1. P. 223–232.
138. Cline E.N., Bicca M.A., Viola K.L., Klein W.L. The Amyloid- $\beta$  Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade. // *J. Alzheimer's Dis.* 2018. V. 64. N. s1. P. S567–S610.
139. Companys-Aleman J., Turcu A.L., Bellver-Sanchis A., Loza M.I., Brea J.M., Canudas A.M., Leiva R., Vázquez S., Pallàs M., Griñán-Ferré C. A Novel NMDA Receptor Antagonist Protects against Cognitive Decline Presented by Senescent Mice. // *Pharmaceutics.* 2020. V. 12. N. 3. P. 284.
140. Condello C., Stöehr J. A $\beta$  propagation and strains: Implications for the phenotypic diversity in Alzheimer's disease. // *Neurobiol. Dis.* 2018. V. 109. P. 191–200.
141. Congdon E.E., Sigurdsson E.M. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. // *Nat. Rev. Neurol.* 2018. V. 14. N. 7. P. 399–415.
142. Cummings J., Lee G., Zhong K., Fonseca J., Taghva K. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2021. // *Alzheimer's Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* 2021. V. 7. N. 1.
143. Cunha C. A simple role for BDNF in learning and memory? // *Front. Mol. Neurosci.* 2010.
144. Curtis D., Bandyopadhyay S. Mini-review: Role of the PI3K/Akt pathway and tyrosine phosphatases in Alzheimer's disease susceptibility. // *Ann. Hum. Genet.* 2021. V. 85. N. 1. P. 1–6.
145. D'Avanzo C., Aronson J., Kim Y.H., Choi S.H., Tanzi R.E., Kim D.Y. Alzheimer's in 3D culture: Challenges and perspectives. // *BioEssays.* 2015. V. 37. N. 10. P. 1139–1148.
146. Damar U., Gersner R., Johnstone J.T., Schachter S., Rotenberg A. Huperzine A as a neuroprotective and antiepileptic drug: a review of preclinical research. // *Expert Rev. Neurother.* 2016. V. 16. N. 6. P. 671–680.
147. Danysz W., Parsons C.G. Alzheimer's disease,  $\beta$ -amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine - searching for the connections. // *Br. J. Pharmacol.* 2012. V. 167. N. 2. P. 324–352.
148. Das A., Dikshit M., Singh H.K., Nath C. 2003. Evaluation of effect of scopolamine on stages of active avoidance learning in rats. P. 47–50.
149. Das T.K., Jana P., Chakrabarti S.K., Abdul Hamid M.R.W. Curcumin

Downregulates GSK3 and Cdk5 in Scopolamine-Induced Alzheimer's Disease Rats Abrogating A $\beta$ 40/42 and Tau Hyperphosphorylation. // *J. Alzheimer's Dis. Reports*. 2019. V. 3. N. 1. P. 257–267.

150. Deacon R.M.J., Bannerman D.M., Kirby B.P., Croucher A., Rawlins J.N.P. Effects of cytotoxic hippocampal lesions in mice on a cognitive test battery. // *Behav. Brain Res*. 2002. V. 133. N. 1. P. 57–68.

151. Dey M., Gunn-Moore F.J., Platt B., Smith T.K. Brain region-specific lipid alterations in the PLB4 hBACE1 knock-in mouse model of Alzheimer's disease. // *Lipids Health Dis*. 2020. V. 19. N. 1. P. 201.

152. Dey M., Singh R.K. Neurotoxic effects of aluminium exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease. // *Pharmacol. Reports*. 2022. V. 74. N. 3. P. 439–450.

153. Ding J., Xi Y.-D., Zhang D.-D., Zhao X., Liu J.-M., Li C.-Q., Han J., Xiao R. Soybean isoflavone ameliorates  $\beta$ -amyloid 1-42-induced learning and memory deficit in rats by protecting synaptic structure and function. // *Synapse*. 2013. V. 67. N. 12. P. 856–864.

154. Dobryakova Y. V., Spivak Y.S., Zaichenko M.I., Koryagina A.A., Markevich V.A., Stepanichev M.Y., Bolshakov A.P. Intrahippocampal Adeno-Associated Virus-Mediated Overexpression of Nerve Growth Factor Reverses 192IgG-Saporin-Induced Impairments of Hippocampal Plasticity and Behavior. // *Front. Neurosci*. 2021. V. 15.

155. Dodart J., May P. Overview on Rodent Models of Alzheimer's Disease. // *Curr. Protoc. Neurosci*. 2005. V. 33. N. 1.

156. Doody R.S., Raman R., Farlow M., Iwatsubo T., Vellas B., Joffe S., Kieburtz K., He F., Sun X., Thomas R.G., Aisen P.S., Siemers E., Sethuraman G., Mohs R. A Phase 3 Trial of Semagacestat for Treatment of Alzheimer's Disease. // *N. Engl. J. Med*. 2013. V. 369. N. 4. P. 341–350.

157. Drummond E., Wisniewski T. Alzheimer's disease: experimental models and reality. // *Acta Neuropathol*. 2017. V. 133. N. 2. P. 155–175.

158. Du X., Wang X., Geng M. Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. // *Transl. Neurodegener*. 2018a. V. 7. N. 1. P. 2.

159. Du Y., Wu H.-T., Qin X.-Y., Cao C., Liu Y., Cao Z.-Z., Cheng Y. Postmortem Brain, Cerebrospinal Fluid, and Blood Neurotrophic Factor Levels in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. // *J. Mol. Neurosci*. 2018b. V. 65. N. 3. P. 289–300.

160. Dujardin S., Colin M., Buée L. Invited review: Animal models of tauopathies and their implications for research/translation into the clinic. // *Neuropathol. Appl. Neurobiol*. 2015. V. 41. N. 1. P. 59–80.

161. Dumurgier J., Sabia S. Epidemiology of Alzheimer's disease: latest trends. // *Rev. Prat*. 2020. V. 70. N. 2. P. 149–151.

162. Egan M.F., Kojima M., Callicott J.H., Goldberg T.E., Kolachana B.S.,

Bertolino A., Zaitsev E., Gold B., Goldman D., Dean M., Lu B., Weinberger D.R. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. // *Cell*. 2003. V. 112. N. 2. P. 257–69.

163. Eibl J.K., Strasser B.C., Ross G.M. Structural, biological, and pharmacological strategies for the inhibition of nerve growth factor. // *Neurochem. Int.* 2012. V. 61. N. 8. P. 1266–1275.

164. Elliott E., Atlas R., Lange A., Ginzburg I. Brain-derived neurotrophic factor induces a rapid dephosphorylation of tau protein through a PI-3Kinase signalling mechanism. // *Eur. J. Neurosci.* 2005. V. 22. N. 5. P. 1081–1089.

165. Ennaceur A. One-trial object recognition in rats and mice: Methodological and theoretical issues. // *Behav. Brain Res.* 2010. V. 215. N. 2. P. 244–254.

166. Ennaceur A., Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. // *Behav. Brain Res.* 1988. V. 31. N. 1. P. 47–59.

167. Escobar M.L., Figueroa-Guzmán Y., Gómez-Palacio-Schjetnan A. In vivo insular cortex LTP induced by brain-derived neurotrophic factor. // *Brain Res.* 2003. V. 991. N. 1–2. P. 274–279.

168. Eu W.Z., Chen Y.-J., Chen W.-T., Wu K.-Y., Tsai C.-Y., Cheng S.-J., Carter R.N., Huang G.-J. The effect of nerve growth factor on supporting spatial memory depends upon hippocampal cholinergic innervation. // *Transl. Psychiatry.* 2021. V. 11. N. 1. P. 162.

169. Fahnstock M., Scott S.A., Jetté N., Weingartner J.A., Crutcher K.A. Nerve growth factor mRNA and protein levels measured in the same tissue from normal and Alzheimer's disease parietal cortex. // *Mol. Brain Res.* 1996. V. 42. N. 1. P. 175–178.

170. Fahnstock M., Michalski B., Xu B., Coughlin M.D. The Precursor Pro-Nerve Growth Factor Is the Predominant Form of Nerve Growth Factor in Brain and Is Increased in Alzheimer's Disease. // *Mol. Cell. Neurosci.* 2001. V. 18. N. 2. P. 210–220.

171. Fahnstock M., Shekari A. ProNGF and neurodegeneration in Alzheimer's disease // *Front. Neurosci.* 2019. T. 13. № FEB. C. 129.

172. Fakhri S., Pesce M., Patruno A., Moradi S.Z., Iranpanah A., Farzaei M.H., Sobarzo-Sánchez E. Attenuation of Nrf2/Keap1/ARE in Alzheimer's Disease by Plant Secondary Metabolites: A Mechanistic Review. // *Molecules.* 2020. V. 25. N. 21. P. 4926.

173. Farooqui A.A. Potential Animal Models of Alzheimer Disease and Their Importance in Investigating the Pathogenesis of Alzheimer Disease // *Therapeutic Potentials of Curcumin for Alzheimer Disease*. Cham: Springer International Publishing. C. 77–111.

174. Feldman H.H., Doody R.S., Kivipelto M., Sparks D.L., Waters D.D., Jones R.W., Schwam E., Schindler R., Hey-Hadavi J., DeMicco D.A., Breazna A. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. // *Neurology.* 2010. V. 74. N. 12. P. 956–964.

175. Ferrini F., Koninck Y. De. Microglia Control Neuronal Network Excitability via BDNF Signalling. // *Neural Plast.* 2013. V. 2013. P. 1–11.
176. Figurov A., Pozzo-Miller L.D., Olafsson P., Wang T., Lu B. Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus. // *Nature.* 1996. V. 381. N. 6584. P. 706–709.
177. Fischer W., Wictorin K., Björklund A., Williams L.R., Varon S., Gage F.H. Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. // *Nature.* 1987. V. 329. N. 6134. P. 65–68.
178. Fletcher J.M., Hughes R.A. Novel monocyclic and bicyclic loop mimetics of brain-derived neurotrophic factor. // *J. Pept. Sci.* 2006. V. 12. N. 8. P. 515–524.
179. Fox C., Maidment I.D., Boustani M., Katona C. Memantine combined with an acetyl cholinesterase inhibitor - hope for the future? // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2006. V. 2. N. 2. P. 121–5.
180. Francis G.J., Martinez J.A., Liu W.Q., Xu K., Ayer A., Fine J., Tuor U.I., Glazner G., Hanson L.R., Frey W.H., Toth C. Intranasal insulin prevents cognitive decline, cerebral atrophy and white matter changes in murine type I diabetic encephalopathy. // *Brain.* 2008. V. 131. N. Pt 12. P. 3311–34.
181. Frerking M., Malenka R.C., Nicoll R.A. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Modulates Inhibitory, But Not Excitatory, Transmission in the CA1 Region of the Hippocampus. // *J. Neurophysiol.* 1998. V. 80. N. 6. P. 3383–3386.
182. Furey M.L., Drevets W.C. Antidepressant efficacy of the antimuscarinic drug scopolamine: A randomized, placebo-controlled clinical trial. // *Arch. Gen. Psychiatry.* 2006. V. 63. N. 10. P. 1121–1129.
183. García-Lara J.M.A., Aguilar-Navarro S., Gutiérrez-Robledo L.M., Avila-Funes J.A. The metabolic syndrome, diabetes, and Alzheimer's disease. // *Rev. Invest. Clin.* 2010. V. 62. N. 4. P. 343–9.
184. Gatta E., Lefebvre T., Gaetani S., Santos M. Dos, Marrocco J., Mir A.-M., Cassano T., Maccari S., Nicoletti F., Mairesse J. Evidence for an imbalance between tau O-GlcNAcylation and phosphorylation in the hippocampus of a mouse model of Alzheimer's disease. // *Pharmacol. Res.* 2016. V. 105. P. 186–197.
185. Gavrilova S.I., Fedorova I.B., Kolykhalov I. V, Odinak M.M., Emelin A.I., Kashin A. V, Selezneva N.D., Kalyn I.B., Roshchina I.F. The therapeutic potential of cerebrolysin in the preventive therapy of Alzheimer's disease. // *Zhurnal Nevrol. i psikiatrii Im. S.S. Korsakova.* 2008. V. 108. N. 8. P. 24–8.
186. Geerts H., Roberts P., Spiros A., Carr R. A strategy for developing new treatment paradigms for neuropsychiatric and neurocognitive symptoms in Alzheimer's disease. // *Front. Pharmacol.* 2013. V. 4.
187. Gella A., Durany N. Oxidative stress in Alzheimer disease. // *Cell Adh. Migr.* 2009. V. 3. N. 1. P. 88–93.

188. Giau V. Van, Bagyinszky E., Youn Y.C., An S.S.A., Kim S. APP, PSEN1, and PSEN2 Mutations in Asian Patients with Early-Onset Alzheimer Disease. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. N. 19. P. 4757.
189. Gillman K.W., Starrett J.E., Parker M.F., Xie K., Bronson J.J., Marcin L.R., McElhone K.E., Bergstrom C.P., Mate R.A., Williams R., Meredith J.E., Burton C.R., Barten D.M., Toyn J.H., Roberts S.B., Lentz K.A., Houston J.G., Zaczek R., Albright C.F., Decicco C.P., Macor J.E., Olson R.E. Discovery and Evaluation of BMS-708163, a Potent, Selective and Orally Bioavailable  $\gamma$ -Secretase Inhibitor. // *ACS Med. Chem. Lett.* 2010. V. 1. N. 3. P. 120–124.
190. Giridharan V. V., Thandavarayan R.A., Sato S., Ko K.M., Konishi T. Prevention of scopolamine-induced memory deficits by schisandrin B, an antioxidant lignan from *Schisandra chinensis* in mice. // *Free Radic. Res.* 2011. V. 45. N. 8. P. 950–958.
191. Giuffrida M.L., Copani A., Rizzarelli E. A promising connection between BDNF and Alzheimer's disease // *Aging (Albany, NY)*. 2018. T. 10. № 8. C. 1791–1792.
192. Gooney M., Messaoudi E., Maher F.O., Bramham C.R., Lynch M.A. BDNF-induced LTP in dentate gyrus is impaired with age: analysis of changes in cell signaling events. // *Neurobiol. Aging*. 2004. V. 25. N. 10. P. 1323–1331.
193. Goyal S.N., Reddy N.M., Patil K.R., Nakhate K.T., Ojha S., Patil C.R., Agrawal Y.O. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes – A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. // *Chem. Biol. Interact.* 2016. V. 244. P. 49–63.
194. Gratuze M., Leyns C.E.G., Holtzman D.M. New insights into the role of TREM2 in Alzheimer's disease. // *Mol. Neurodegener.* 2018. V. 13. N. 1. P. 66.
195. Grayson B., Leger M., Piercy C., Adamson L., Harte M., Neill J. Assessment of disease-related cognitive impairments using the novel object recognition (NOR) task in rodents. // *Behav. Brain Res.* 2015. V. 285. P. 176–193.
196. Greco A., Villa R., Pierotti M.A. Genomic organization of the human NTRK1 gene. // *Oncogene*. 1996. V. 13. N. 11. P. 2463–6.
197. Grieb P. Intracerebroventricular Streptozotocin Injections as a Model of Alzheimer's Disease: in Search of a Relevant Mechanism. // *Mol. Neurobiol.* 2016. V. 53. N. 3. P. 1741–1752.
198. Grigorenko A.P., Rogaev E.I. Molecular basis of Alzheimer's disease. // *Mol. Biol.* 2007. V. 41. N. 2. P. 294–307.
199. Gromova O.A., Pronin A. V., Torshin I.Y., Kalacheva A.G., Grishina T.R. Neurotrophic and antioxidant potential of neuropeptides and trace elements. // *Neurol. Neuropsychiatry, Psychosom.* 2015. V. 7. N. 4. P. 92–100.
200. Gudasheva T.A., Tarasyuk A. V., Pomogaibo S. V., Logvinov I.O., Povarnina P.Y., Antipova T.A., Seredenin S.B. Design and synthesis of dipeptide mimetics of the brain-derived neurotrophic factor. // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2012. V. 38. N. 3. P. 243–

252.

201. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Antipova T.A., Firsova Y.N., Konstantinopolsky M.A., Seredenin S.B. Dimeric dipeptide mimetics of the nerve growth factor Loop 4 and Loop 1 activate TRKA with different patterns of intracellular signal transduction. // *J. Biomed. Sci.* 2015. V. 22. N. 1. P. 106.

202. Gudasheva T.A., Povarnina P., Logvinov I.O., Antipova T.A., Seredenin S.B. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats. // *Drug Des. Devel. Ther.* 2016. V. 10. P. 3545–3553.

203. Gudasheva T.A., Tarasiuk A. V., Sazonova N.M., Pomogaibo S. V., Shumskiy A.N., Logvinov I.O., Nikolaev S. V., Povarnina P.Y., Konstantinopolsky M.A., Antipova T.A., Seredenin S.B. Design, synthesis, and neuroprotective effects of a dimeric dipeptide mimetic of the third loop of the nerve growth factor. // *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2017a. V. 43. N. 3. P. 235–247.

204. Gudasheva T.A., Tarasiuk A. V., Sazonova N.M., Povarnina P.Y., Antipova T.A., Seredenin S.B. A novel dimeric dipeptide mimetic of the BDNF selectively activates the MAPK-Erk signaling pathway. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2017b. V. 476. N. 1. P. 291–295.

205. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Antipova T.A., Seredenin S.B. Dipeptide Mimetic of the BDNF GSB-106 with Antidepressant-Like Activity Stimulates Synaptogenesis. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2018. V. 481. N. 1. P. 225–227.

206. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Volkova A.A., Kruglov S. V., Antipova T.A., Seredenin S.B. A Nerve Growth Factor Dipeptide Mimetic Stimulates Neurogenesis and Synaptogenesis in the Hippocampus and Striatum of Adult Rats with Focal Cerebral Ischemia. // *Acta Naturae.* 2019. V. 11. N. 3. P. 31–37.

207. Gudasheva T.A., Logvinov I.O., Nikolaev S. V., Antipova T.A., Povarnina P.Y., Seredenin S.B. Dipeptide Mimetics of Different NGF and BDNF Loops Activate PLC- $\gamma$ 1. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2020. V. 494. N. 1. P. 244–247.

208. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Tarasiuk A. V., Seredenin S.B. Low-molecular mimetics of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor: Design and pharmacological properties. // *Med. Res. Rev.* 2021. N. 41. P. 2746–74.

209. Guzowski J.F., Lyford G.L., Stevenson G.D., Houston F.P., McGaugh J.L., Worley P.F., Barnes C.A. Inhibition of Activity-Dependent Arc Protein Expression in the Rat Hippocampus Impairs the Maintenance of Long-Term Potentiation and the Consolidation of Long-Term Memory. // *J. Neurosci.* 2000. V. 20. N. 11. P. 3993–4001.

210. Haass C., Kaether C., Thinakaran G., Sisodia S. Trafficking and Proteolytic Processing of APP. // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. N. 5. P. a006270–a006270.

211. Halliwell B., Cheah I.K., Tang R.M.Y. Ergothioneine – a diet-derived antioxidant with therapeutic potential. // *FEBS Lett.* 2018. V. 592. N. 20. P. 3357–3366.

212. Hamilton A., Patterson S., Porter D., Gault V.A., Holscher C. Novel GLP-1

mimetics developed to treat type 2 diabetes promote progenitor cell proliferation in the brain. // *J. Neurosci. Res.* 2011. V. 89. N. 4. P. 481–489.

213. Hampel H., Mesulam M.-M., Cuello A.C., Farlow M.R., Giacobini E., Grossberg G.T., Khachaturian A.S., Vergallo A., Cavedo E., Snyder P.J., Khachaturian Z.S. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. // *Brain.* 2018. V. 141. N. 7. P. 1917–1933.

214. Han J., Pollak J., Yang T., Siddiqui M.R., Doyle K.P., Taravosh-Lahn K., Cekanaviciute E., Han A., Goodman J.Z., Jones B., Jing D., Massa S.M., Longo F.M., Buckwalter M.S. Delayed Administration of a Small Molecule Tropomyosin-Related Kinase B Ligand Promotes Recovery After Hypoxic–Ischemic Stroke. // *Stroke.* 2012. V. 43. N. 7. P. 1918–1924.

215. Han X., Zhu S., Wang B., Chen L., Li R., Yao W., Qu Z. Antioxidant action of 7,8-dihydroxyflavone protects PC12 cells against 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity. // *Neurochem. Int.* 2014. V. 64. P. 18–23.

216. Hanger D.P., Anderton B.H., Noble W. Tau phosphorylation: the therapeutic challenge for neurodegenerative disease. // *Trends Mol. Med.* 2009. V. 15. N. 3. P. 112–119.

217. Hardy J., Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. // *Trends Pharmacol. Sci.* 1991. V. 12. P. 383–388.

218. Harkany T., O'Mahony S., Kelly J., Soós K., Törő I., Penke B., Luiten P.G., Nyakas C., Gulya K., Leonard B.  $\beta$ -Amyloid(Phe(SO<sub>3</sub>H)<sub>24</sub>)<sub>25–35</sub> in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation. // *Behav. Brain Res.* 1998. V. 90. N. 2. P. 133–145.

219. Harrington C., Sawchak S., Chiang C., Davies J., Donovan C., M. Saunders A., Irizarry M., Jeter B., Zvartau-Hind M., H. van Dyck C., Gold M. Rosiglitazone Does Not Improve Cognition or Global Function when Used as Adjunctive Therapy to AChE Inhibitors in Mild-to-Moderate Alzheimers Disease: Two Phase 3 Studies. // *Curr. Alzheimer Res.* 2011. V. 8. N. 5. P. 592–606.

220. Harvey C.D., Yasuda R., Zhong H., Svoboda K. The Spread of Ras Activity Triggered by Activation of a Single Dendritic Spine. // *Science (80- )*. 2008. V. 321. N. 5885. P. 136–140.

221. Hedrick N.G., Harward S.C., Hall C.E., Murakoshi H., McNamara J.O., Yasuda R. Rho GTPase complementation underlies BDNF-dependent homo- and heterosynaptic plasticity. // *Nature.* 2016. V. 538. N. 7623. P. 104–108.

222. Hefti F. Nerve growth factor promotes survival of septal cholinergic neurons after fimbrial transections. // *J. Neurosci.* 1986. V. 6. N. 8. P. 2155–2162.

223. Heo Y.-M., Shin M.-S., Lee J.-M., Kim C.-J., Baek S.-B., Kim K.-H., Baek S.-S. Treadmill Exercise Ameliorates Short-Term Memory Disturbance in Scopolamine-Induced Amnesia Rats. // *Int. Neurorol. J.* 2014. V. 18. N. 1. P. 16.

224. Hoe H.-S., Lee K.J., Carney R.S.E., Lee J., Markova A., Lee J.-Y., Howell



B.W., Hyman B.T., Pak D.T.S., Bu G., Rebeck G.W. Interaction of Reelin with Amyloid Precursor Protein Promotes Neurite Outgrowth. // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. N. 23. P. 7459–7473.

225. Hoeffler C.A., Klann E. mTOR signaling: At the crossroads of plasticity, memory and disease. // *Trends Neurosci.* 2010. V. 33. N. 2. P. 67–75.

226. Holloway P.M., Willaime-Morawek S., Siow R., Barber M., Owens R.M., Sharma A.D., Rowan W., Hill E., Zagnoni M. Advances in microfluidic in vitro systems for neurological disease modeling. // *J. Neurosci. Res.* 2021. V. 99. N. 5. P. 1276–1307.

227. Hong-Qi Y., Zhi-Kun S., Sheng-Di C. Current advances in the treatment of Alzheimer's disease: focused on considerations targeting A $\beta$  and tau. // *Transl. Neurodegener.* 2012. V. 1. N. 1. P. 21.

228. Horvath P., Aulner N., Bickle M., Davies A.M., Nery E. Del, Ebner D., Montoya M.C., Östling P., Pietiäinen V., Price L.S., Shorte S.L., Turcatti G., Schantz C. von, Carragher N.O. Screening out irrelevant cell-based models of disease. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2016. V. 15. N. 11. P. 751–769.

229. Horwood J.M., Dufour F., Laroche S., Davis S. Signalling mechanisms mediated by the phosphoinositide 3-kinase/Akt cascade in synaptic plasticity and memory in the rat. // *Eur. J. Neurosci.* 2006. V. 23. N. 12. P. 3375–3384.

230. Hruska Z., Dohanich G.P. The effects of chronic estradiol treatment on working memory deficits induced by combined infusion of  $\beta$ -amyloid (1–42) and ibotenic acid. // *Horm. Behav.* 2007. V. 52. N. 3. P. 297–306.

231. Huang L.-K., Chao S.-P., Hu C.-J. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease. // *J. Biomed. Sci.* 2020. V. 27. N. 1. P. 18.

232. Ibáñez C.F. Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors. // *Trends Neurosci.* 1998. V. 21. N. 10. P. 438–444.

233. Imbimbo B. Therapeutic Potential of  $\gamma$ -Secretase Inhibitors and Modulators. // *Curr. Top. Med. Chem.* 2008. V. 8. N. 1. P. 54–61.

234. İpek Konaklı M. Alzheimer's Disease and Animal Models. // *J. Exp. Basic Med. Sci.* 2021. V. 1. N. 3. P. 107–112.

235. Iptyshev A.M., Gorina Y. V., Lopatina O.L., Komleva Y.K., Salmina A.B. Experimental models of Alzheimer's disease: advantages and disadvantages. // *Sib. Med. Rev.* 2016. N. 4. P. 5–21.

236. Isaev N.K., Stelmashook E. V., Genrikhs E.E., Korshunova G.A., Sumbatyan N. V., Kapkaeva M.R., Skulachev V.P. Neuroprotective properties of mitochondria-targeted antioxidants of the SkQ-type. // *Rev. Neurosci.* 2016. V. 27. N. 8. P. 849–855.

237. Isaev N.K., Stelmashook E. V., Genrikhs E.E. Role of zinc and copper ions in the pathogenetic mechanisms of traumatic brain injury and Alzheimer's disease. // *Rev. Neurosci.* 2020. V. 31. N. 3. P. 233–243.

238. Ishola I.O., Jacinta A.A., Adeyemi O.O. Cortico-hippocampal memory

enhancing activity of hesperetin on scopolamine-induced amnesia in mice: role of antioxidant defense system, cholinergic neurotransmission and expression of BDNF. // *Metab. Brain Dis.* 2019 344. 2019. V. 34. N. 4. P. 979–989.

239. Iulita M.F., Bistué Millón M.B., Pentz R., Aguilar L.F., Carmo S. Do, Allard S., Michalski B., Wilson E.N., Ducatenzeiler A., Bruno M.A., Fahnstock M., Cuello A.C. Differential deregulation of NGF and BDNF neurotrophins in a transgenic rat model of Alzheimer's disease. // *Neurobiol. Dis.* 2017. V. 108. P. 307–323.

240. Ivanov A.D., Tukhbatova G.R., Salozhin S.V., Markevich V.A. NGF but not BDNF overexpression protects hippocampal LTP from beta-amyloid-induced impairment. // *Neuroscience.* 2015. V. 289. P. 114–122.

241. Jafarian S., Ling K.H., Hassan Z., Perimal-Lewis L., Sulaiman M.R., Perimal E.K. Effect of zerumbone on scopolamine-induced memory impairment and anxiety-like behaviours in rats. // *Alzheimer's Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* 2019. V. 5. N. 1. P. 637–643.

242. Jahanshahi M., Nickmahzar E.G., Babakordi F. The effect of Ginkgo biloba extract on scopolamine-induced apoptosis in the hippocampus of rats. // *Anat. Sci. Int.* 2013. V. 88. N. 4. P. 217–222.

243. Jang S.-W., Okada M., Sayeed I., Xiao G., Stein D., Jin P., Ye K. Gambogic amide, a selective agonist for TrkA receptor that possesses robust neurotrophic activity, prevents neuronal cell death. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2007. V. 104. N. 41. P. 16329–16334.

244. Jang S.-W., Liu X., Chan C.B., France S.A., Sayeed I., Tang W., Lin X., Xiao G., Andero R., Chang Q., Ressler K.J., Ye K. Deoxygedunin, a Natural Product with Potent Neurotrophic Activity in Mice. // *PLoS One.* 2010. V. 5. N. 7. P. e11528.

245. Jang S., Kim H., Kim H., Lee S.K., Kim E.W., Namkoong K., Kim E. Long-Term Culture of Organotypic Hippocampal Slice from Old 3xTg-AD Mouse: An ex vivo Model of Alzheimer's Disease. // *Psychiatry Investig.* 2018. V. 15. N. 2. P. 205–213.

246. Janson J., Laedtke T., Parisi J.E., O'Brien P., Petersen R.C., Butler P.C. Increased Risk of Type 2 Diabetes in Alzheimer Disease. // *Diabetes.* 2004. V. 53. N. 2. P. 474–481.

247. Jarosz-Griffiths H.H., Noble E., Rushworth J. V., Hooper N.M. Amyloid- $\beta$  Receptors: The Good, the Bad, and the Prion Protein. // *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291. N. 7. P. 3174–3183.

248. Je Jeon W., Dean B., Scarr E., Gibbons A. The Role of Muscarinic Receptors in the Pathophysiology of Mood Disorders: A Potential Novel Treatment? // *Curr. Neuropharmacol.* 2015. V. 13. N. 6. P. 739–749.

249. Ji C., Sigurdsson E.M. Current Status of Clinical Trials on Tau Immunotherapies. // *Drugs.* 2021. V. 81. N. 10. P. 1135–1152.

250. Ji Y., Lu Y., Yang F., Shen W., Tang T.T.-T., Feng L., Duan S., Lu B. Acute and gradual increases in BDNF concentration elicit distinct signaling and functions in

neurons. // *Nat. Neurosci.* 2010. V. 13. N. 3. P. 302–309.

251. Jiao S.S., Shen L.L., Zhu C., Bu X.L., Liu Y.H., Liu C.H., Yao X.Q., Zhang L.L., Zhou H.D., Walker D.G., Tan J., Götz J., Zhou X.F., Wang Y.J. Brain-derived neurotrophic factor protects against tau-related neurodegeneration of Alzheimer's disease. // *Transl. Psychiatry.* 2016. V. 6. N. 10. P. e907.

252. Jobim P.F.C., Pedroso T.R., Werenicz A., Christoff R.R., Maurmann N., Reolon G.K., Schröder N., Roesler R. Impairment of object recognition memory by rapamycin inhibition of mTOR in the amygdala or hippocampus around the time of learning or reactivation. // *Behav. Brain Res.* 2012. V. 228. N. 1. P. 151–158.

253. Jorfi M., D'Avanzo C., Kim D.Y., Irimia D. Three-Dimensional Models of the Human Brain Development and Diseases. // *Adv. Healthc. Mater.* 2018. V. 7. N. 1. P. 1700723.

254. Josephy-Hernandez S., Jmaeff S., Pirvulescu I., Aboukassim T., Saragovi H.U. Neurotrophin receptor agonists and antagonists as therapeutic agents: An evolving paradigm. // *Neurobiol. Dis.* 2017. V. 97. N. Pt B. P. 139–155.

255. Kabir M.T., Uddin M.S., Mamun A. Al, Jeandet P., Aleya L., Mansouri R.A., Ashraf G.M., Mathew B., Bin-Jumah M.N., Abdel-Daim M.M. Combination Drug Therapy for the Management of Alzheimer's Disease. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. N. 9. P. 3272.

256. Kakizawa S. Neurotrophin family // *Handbook of Hormones.* : Elsevier. C. 471–473.

257. Kamat P.K. Streptozotocin induced Alzheimer's disease like changes and the underlying neural degeneration and regeneration mechanism. // *Neural Regen. Res.* 2015. V. 10. N. 7. P. 1050.

258. Kamat P.K., Kalani A., Rai S., Tota S.K., Kumar A., Ahmad A.S. Streptozotocin Intracerebroventricular-Induced Neurotoxicity and Brain Insulin Resistance: a Therapeutic Intervention for Treatment of Sporadic Alzheimer's Disease (sAD)-Like Pathology. // *Mol. Neurobiol.* 2016. V. 53. N. 7. P. 4548–4562.

259. Kang H., Schuman E. Neurotrophin-induced modulation of synaptic transmission in the adult hippocampus. // *J. Physiol.* 1995. V. 89. N. 1. P. 11–22.

260. Karthivashan G., Kweon M.H., Park S.Y., Kim J.S., Kim D.H., Ganesan P., Choi D.K. Cognitive-enhancing and ameliorative effects of acanthoside B in a scopolamine-induced amnesic mouse model through regulation of oxidative/inflammatory/cholinergic systems and activation of the TrkB/CREB/BDNF pathway. // *Food Chem. Toxicol.* 2019. V. 129. P. 444–457.

261. Kelleher R.J., Govindarajan A., Jung H.-Y., Kang H., Tonegawa S. Translational Control by MAPK Signaling in Long-Term Synaptic Plasticity and Memory. // *Cell.* 2004. V. 116. N. 3. P. 467–479.

262. Kemp S.W.P., Webb A.A., Dhaliwal S., Syed S., Walsh S.K., Midha R. Dose and duration of nerve growth factor (NGF) administration determine the extent of

behavioral recovery following peripheral nerve injury in the rat. // *Exp. Neurol.* 2011. V. 229. N. 2. P. 460–470.

263. Khan S., Fatima Shad K. Neuroprotective Effects of Curcumin and Vitamin D3 on Scopolamine-Induced Learning-Impaired Rat Model of Alzheimer's Disease // *Neurological and Mental Disorders*. Rijeka, Croatia: IntechOpen.

264. Kirouac L., Rajic A.J., Cribbs D.H., Padmanabhan J. Activation of Ras-ERK Signaling and GSK-3 by Amyloid Precursor Protein and Amyloid Beta Facilitates Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. // *eNeuro*. 2017. V. 4. N. 2. P. 149–165.

265. Kiryushko D., Berezin V., Bock E. Regulators of Neurite Outgrowth: Role of Cell Adhesion Molecules. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004. V. 1014. N. 1. P. 140–154.

266. Kitazawa M., Medeiros R., M. LaFerla F. Transgenic Mouse Models of Alzheimer Disease: Developing a Better Model as a Tool for Therapeutic Interventions. // *Curr. Pharm. Des.* 2012. V. 18. N. 8. P. 1131–1147.

267. Klöcker N., Cellerino A., Bähr M. Free Radical Scavenging and Inhibition of Nitric Oxide Synthase Potentiates the Neurotrophic Effects of Brain-Derived Neurotrophic Factor on Axotomized Retinal Ganglion Cells In Vivo. // *J. Neurosci.* 1998. V. 18. N. 3. P. 1038–1046.

268. Kniewallner K.M., Foidl B.M., Humpel C. Platelets isolated from an Alzheimer mouse damage healthy cortical vessels and cause inflammation in an organotypic ex vivo brain slice model. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. N. 1. P. 15483.

269. Kocis P., Tolar M., Yu J., Sinko W., Ray S., Blennow K., Fillit H., Hey J.A. Elucidating the A $\beta$ 42 Anti-Aggregation Mechanism of Action of Tramiprosate in Alzheimer's Disease: Integrating Molecular Analytical Methods, Pharmacokinetic and Clinical Data. // *CNS Drugs*. 2017. V. 31. N. 6. P. 495–509.

270. Kopec B., Zhao L., Rosa-Molinar E., Siahaan T. Non-invasive Brain Delivery and Efficacy of BDNF in APP/PS1 Transgenic Mice. // *Med. Res. Arch.* 2020. V. 8. N. 2.

271. Korte M. BDNF and TrkB-Mediated Signalling Supports Processes of Metaplasticity and Long-Term Memory Formation // *Synaptic Tagging and Capture*. New York, NY: Springer New York. C. 157–171.

272. Kozlowski H., Luczkowski M., Remelli M., Valensin D. Copper, zinc and iron in neurodegenerative diseases (Alzheimer's, Parkinson's and prion diseases). // *Coord. Chem. Rev.* 2012. V. 256. N. 19–20. P. 2129–2141.

273. Kraeuter A.-K., Guest P.C., Sarnyai Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. C. 105–111.

274. Kranenburg O., Moolenaar W.H. Ras-MAP kinase signaling by lysophosphatidic acid and other G protein-coupled receptor agonists. // *Oncogene*. 2001. V. 20. N. 13. P. 1540–1546.

275. Kuipers S.D., Trentani A., Tiron A., Mao X., Kuhl D., Bramham C.R. BDNF-

induced LTP is associated with rapid Arc/Arg3.1-dependent enhancement in adult hippocampal neurogenesis. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. N. 1. P. 21222.

276. Kumar Thakur A., Kamboj P., Goswami K., Ahuja K. Pathophysiology and management of alzheimer's disease: an overview. // *J. Anal. Pharm. Res.* 2018. V. 7. N. 2.

277. Kwon S.-H., Kim H.-C., Lee S.-Y., Jang C.-G. Loganin improves learning and memory impairments induced by scopolamine in mice. // *Eur. J. Pharmacol.* 2009. V. 619. N. 1–3. P. 44–49.

278. Lambracht-Washington D., Rosenberg R.N. Advances in the development of vaccines for Alzheimer's disease. // *Discov. Med.* 2013. V. 15. N. 84. P. 319–26.

279. Lannert H., Hoyer S. Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. // *Behav. Neurosci.* 1998. V. 112. N. 5. P. 1199–1208.

280. Lasagna-Reeves C.A., Castillo-Carranza D.L., Sengupta U., Guerrero-Munoz M.J., Kiritoshi T., Neugebauer V., Jackson G.R., Kaye R. Alzheimer brain-derived tau oligomers propagate pathology from endogenous tau. // *Sci. Rep.* 2012. V. 2. N. 1. P. 700.

281. Lau H.H.C., Ingelsson M., Watts J.C. The existence of A $\beta$  strains and their potential for driving phenotypic heterogeneity in Alzheimer's disease. // *Acta Neuropathol.* 2021. V. 142. N. 1. P. 17–39.

282. Leal G., Bramham C.R., Duarte C.B. BDNF and Hippocampal Synaptic Plasticity. C. 153–195.

283. Lee-Hotta S., Uchiyama Y., Kametaka S. Role of the BDNF-TrkB pathway in KCC2 regulation and rehabilitation following neuronal injury: A mini review. // *Neurochem. Int.* 2019. V. 128. P. 32–38.

284. Lee J.-E., Han P.-L. An Update of Animal Models of Alzheimer Disease with a Reevaluation of Plaque Depositions. // *Exp. Neurol.* 2013. V. 22. N. 2. P. 84–95.

285. Lei M., Xu H., Li Z., Wang Z., O'Malley T.T., Zhang D., Walsh D.M., Xu P., Selkoe D.J., Li S. Soluble A $\beta$  oligomers impair hippocampal LTP by disrupting glutamatergic/GABAergic balance. // *Neurobiol. Dis.* 2016. V. 85. P. 111–121.

286. Leibrock J., Lottspeich F., Hohn A., Hofer M., Hengerer B., Masiakowski P., Thoenen H., Barde Y.-A. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. // *Nature.* 1989. V. 341. N. 6238. P. 149–152.

287. Lemtiri-Chlieh F., Levine E.S. BDNF Evokes Release of Endogenous Cannabinoids at Layer 2/3 Inhibitory Synapses in the Neocortex. // *J. Neurophysiol.* 2010. V. 104. N. 4. P. 1923–1932.

288. LeSauter L., Wei L., Gibbs B.F., Saragovi H.U. Small Peptide Mimics of Nerve Growth Factor Bind TrkA Receptors and Affect Biological Responses. // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. N. 12. P. 6564–6569.

289. Lessmann V., Gottmann K., Malcangio M. Neurotrophin secretion: current

facts and future prospects. // *Prog. Neurobiol.* 2003. V. 69. N. 5. P. 341–374.

290. Levi-Montalcini R., Hamburger V. Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo. // *J. Exp. Zool.* 1951. V. 116. N. 2. P. 321–361.

291. Lewis J., McGowan E., Rockwood J., Melrose H., Nacharaju P., Slegtenhorst M. Van, Gwinn-Hardy K., Murphy M.P., Baker M., Yu X., Duff K., Hardy J., Corral A., Lin W.-L., Yen S.-H., Dickson D.W., Davies P., Hutton M. Neurofibrillary tangles, amyotrophy and progressive motor disturbance in mice expressing mutant (P301L) tau protein. // *Nat. Genet.* 2000. V. 25. N. 4. P. 402–405.

292. Leyssen M., Ayaz D., Hébert S.S., Reeve S., Strooper B. De, Hassan B.A. Amyloid precursor protein promotes post-developmental neurite arborization in the *Drosophila* brain. // *EMBO J.* 2005. V. 24. N. 16. P. 2944–2955.

293. Li H., Liu C.-C., Zheng H., Huang T.Y. Amyloid, tau, pathogen infection and antimicrobial protection in Alzheimer's disease –conformist, nonconformist, and realistic prospects for AD pathogenesis. // *Transl. Neurodegener.* 2018. V. 7. N. 1. P. 34.

294. Li H., Wolfe M.S., Selkoe D.J. Toward Structural Elucidation of the  $\gamma$ -Secretase Complex. // *Structure.* 2009. V. 17. N. 3. P. 326–334.

295. Li Y., Jia Y.-C., Cui K., Li N., Zheng Z.-Y., Wang Y., Yuan X. Essential role of TRPC channels in the guidance of nerve growth cones by brain-derived neurotrophic factor. // *Nature.* 2005. V. 434. N. 7035. P. 894–898.

296. Licznarski P., Jonas E.A. BDNF signaling: Harnessing stress to battle mood disorder. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2018. V. 115. N. 15. P. 3742–3744.

297. Lin C.-H., Yeh S.-H., Lin C.-H., Lu K.-T., Leu T.-H., Chang W.-C., Gean P.-W. A Role for the PI-3 Kinase Signaling Pathway in Fear Conditioning and Synaptic Plasticity in the Amygdala. // *Neuron.* 2001. V. 31. N. 5. P. 841–851.

298. Liu J., Chang L., Song Y., Li H., Wu Y. The Role of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. // *Front. Neurosci.* 2019a. V. 13.

299. Liu L., Yan T., Jiang L., Hu W., Hu M., Wang C., Zhang Q., Long Y., Wang J., Li Y., Hu M., Hong H. Pioglitazone ameliorates memory deficits in streptozotocin-induced diabetic mice by reducing brain  $\beta$ -amyloid through PPAR $\gamma$  activation. // *Acta Pharmacol. Sin.* 2013. V. 34. N. 4. P. 455–463.

300. Liu P.P., Xie Y., Meng X.Y., Kang J.S. Erratum: History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease (Signal Transduction and Targeted Therapy, (2019), 10.1038/s41392-019-0063-8). // *Signal Transduct. Target. Ther.* 2019b. V. 4. N. 1. P. 1–22.

301. Liu Y., Liu F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Gong C.-X. Deficient brain insulin signalling pathway in Alzheimer's disease and diabetes. // *J. Pathol.* 2011. V. 225. N. 1. P. 54–62.

302. Logvinov I.O., Antipova T.A., Gudasheva T.A., Tarasiuk A. V., Antipov P.I.,

Seredenin S.B. Neuroprotective Effects of Dipeptide Analogue of Brain-Derived Neurotrophic Factor GSB-106 in In Vitro Experiments. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2013. V. 155. N. 3. P. 343–345.

303. Long H.Z., Cheng Y., Zhou Z.W., Luo H.Y., Wen D.D., Gao L.C. PI3K/AKT Signal Pathway: A Target of Natural Products in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12.

304. Longo F.M., Manthorpe M., Xie Y.M., Varon S. Synthetic NGF peptide derivatives prevent neuronal death via a p75 receptor-dependent mechanism. // *J. Neurosci. Res.* 1997. V. 48. N. 1. P. 1–17.

305. Longo F.M., Massa S.M. Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013. V. 12. N. 7. P. 507–525.

306. Longo F.M., Vu T.K., Mobley W.C. The in vitro biological effect of nerve growth factor is inhibited by synthetic peptides. // *Cell Regul.* 1990. V. 1. N. 2. P. 189–195.

307. Lorente De Nó R. Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. // *J. für Psychol. und Neurol.* 1934. V. 46. P. 113–177.

308. Lovestone S., Boada M., Dubois B., Hüll M., Rinne J.O., Huppertz H.-J., Calero M., Andrés M. V., Gómez-Carrillo B., León T., Ser T. del. A Phase II Trial of Tideglusib in Alzheimer's Disease. // *J. Alzheimer's Dis.* 2015. V. 45. N. 1. P. 75–88.

309. Lueptow L.M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. // *J. Vis. Exp.* 2017. N. 126.

310. Lund I. V., Hu Y., Raol Y.H., Benham R.S., Faris R., Russek S.J., Brooks-Kayal A.R. BDNF Selectively Regulates GABA A Receptor Transcription by Activation of the JAK/STAT Pathway. // *Sci. Signal.* 2008. V. 1. N. 41.

311. Luo H., Xiang Y., Qu X., Liu H., Liu C., Li G., Han L., Qin X. Apelin-13 Suppresses Neuroinflammation Against Cognitive Deficit in a Streptozotocin-Induced Rat Model of Alzheimer's Disease Through Activation of BDNF-TrkB Signaling Pathway. // *Front. Pharmacol.* 2019. V. 10. N. MAR. P. 395.

312. Lynch G., Rex C.S., Chen L.Y., Gall C.M. The substrates of memory: Defects, treatments, and enhancement // *Eur. J. Pharmacol.* 2008. T. 585. № 1. C. 2–13.

313. Machhi J., Sinha A., Patel P., Kanhed A.M., Upadhyay P., Tripathi A., Parikh Z.S., Chruvattil R., Pillai P.P., Gupta S., Patel K., Giridhar R., Yadav M.R. Neuroprotective Potential of Novel Multi-Targeted Isoalloxazine Derivatives in Rodent Models of Alzheimer's Disease Through Activation of Canonical Wnt/ $\beta$ -Catenin Signalling Pathway. // *Neurotox. Res.* 2016. V. 29. N. 4. P. 495–513.

314. MacLeod R., Hillert E.-K., Cameron R.T., Baillie G.S. The role and therapeutic targeting of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -secretase in Alzheimer's disease. // *Futur. Sci. OA.* 2015. V. 1. N. 3.

315. Maliartchouk S., Feng Y., Ivanisevic L., Debeir T., Cuello A.C., Burgess K., Saragovi H.U. A designed peptidomimetic agonistic ligand of TrkA nerve growth factor receptors. // *Mol. Pharmacol.* 2000. V. 57. N. 2. P. 385–91.
316. Mammeri N. El, Dregni A.J., Duan P., Wang H.K., Hong M. Microtubule-binding core of the tau protein. // *Sci. Adv.* 2022. V. 8. N. 29.
317. Man H.-Y., Wang Q., Lu W.-Y., Ju W., Ahmadian G., Liu L., D'Souza S., Wong T., Taghibiglou C., Lu J., Becker L.E., Pei L., Liu F., Wymann M.P., MacDonald J.F., Wang Y.T. Activation of PI3-Kinase Is Required for AMPA Receptor Insertion during LTP of mEPSCs in Cultured Hippocampal Neurons. // *Neuron.* 2003. V. 38. N. 4. P. 611–624.
318. Manczak M., Anekonda T.S., Henson E., Park B.S., Quinn J., Reddy P.H. Mitochondria are a direct site of A $\beta$  accumulation in Alzheimer's disease neurons: implications for free radical generation and oxidative damage in disease progression. // *Hum. Mol. Genet.* 2006. V. 15. N. 9. P. 1437–1449.
319. Mariga A., Glaser J., Mathias L., Xu D., Xiao M., Worley P., Ninan I., Chao M. V. Definition of a Bidirectional Activity-Dependent Pathway Involving BDNF and Narp. // *Cell Rep.* 2015. V. 13. N. 9. P. 1747–1756.
320. Marlin M.C., Li G. Biogenesis and Function of the NGF/TrkA Signaling Endosome. C. 239–257.
321. Marucci G., Buccioni M., Ben D.D., Lambertucci C., Volpini R., Amenta F. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. // *Neuropharmacology.* 2021. V. 190. P. 108352.
322. Massa S.M. Small, Nonpeptide p75NTR Ligands Induce Survival Signaling and Inhibit proNGF-Induced Death. // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. N. 20. P. 5288–5300.
323. Massa S.M., Yang T., Xie Y., Shi J., Bilgen M., Joyce J.N., Nehama D., Rajadas J., Longo F.M. Small molecule BDNF mimetics activate TrkB signaling and prevent neuronal degeneration in rodents. // *J. Clin. Invest.* 2010. V. 120. N. 5. P. 1774–1785.
324. Masters C.L., Selkoe D.J. Biochemistry of Amyloid -Protein and Amyloid Deposits in Alzheimer Disease. // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012. V. 2. N. 6. P. a006262–a006262.
325. Matsuo E.S., Shin R.-W., Billingsley M.L., deVoorde A. Van, O'Connor M., Trojanowski J.Q., Lee V.M.Y. Biopsy-derived adult human brain tau is phosphorylated at many of the same sites as Alzheimer's disease paired helical filament tau. // *Neuron.* 1994. V. 13. N. 4. P. 989–1002.
326. Mattson M.P., LaFerla F.M., Chan S.L., Leissring M.A., Shepel P.N., Geiger J.D. Calcium signaling in the ER: its role in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. // *Trends Neurosci.* 2000. V. 23. N. 5. P. 222–9.
327. McDonald N.Q., Lapatto R., Rust J.M., Gunning J., Wlodawer A., Blundell T.L. New protein fold revealed by a 2.3-Å resolution crystal structure of nerve growth



factor. // *Nature*. 1991. V. 354. N. 6352. P. 411–414.

328. McEneny-King A., Osman W., Edginton A.N., Rao P.P.N. Cytochrome P450 binding studies of novel tacrine derivatives: Predicting the risk of hepatotoxicity. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2017. V. 27. N. 11. P. 2443–2449.

329. McLaurin J., Kierstead M.E., Brown M.E., Hawkes C.A., Lambermon M.H.L., Phinney A.L., Darabie A.A., Cousins J.E., French J.E., Lan M.F., Chen F., Wong S.S.N., Mount H.T.J., Fraser P.E., Westaway D., George-Hyslop P.S. Cyclohexanehexol inhibitors of A $\beta$  aggregation prevent and reverse Alzheimer phenotype in a mouse model. // *Nat. Med.* 2006. V. 12. N. 7. P. 801–808.

330. Meador K., Loring D., Nichols M., Zamrini E., Rivner M., Posas H., Thompson E., Moore E. Preliminary findings of high-dose thiamine in dementia of Alzheimer's type. // *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 1993. V. 6. N. 4. P. 222–9.

331. Meng L., Li X.-Y., Shen L., Ji H.-F. Type 2 Diabetes Mellitus Drugs for Alzheimer's Disease: Current Evidence and Therapeutic Opportunities. // *Trends Mol. Med.* 2020. V. 26. N. 6. P. 597–614.

332. Messaoudi E., Ying S.-W., Kanhema T., Croll S.D., Bramham C.R. Brain-Derived Neurotrophic Factor Triggers Transcription-Dependent, Late Phase Long-Term Potentiation In Vivo. // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. N. 17. P. 7453–7461.

333. Meyer-Luehmann M., Coomaraswamy J., Bolmont T., Kaeser S., Schaefer C., Kilger E., Neuenschwander A., Abramowski D., Frey P., Jaton A.L., Vigouret J.-M., Paganetti P., Walsh D.M., Mathews P.M., Ghiso J., Staufenbiel M., Walker L.C., Jucker M. Exogenous Induction of Cerebral  $\beta$ -Amyloidogenesis Is Governed by Agent and Host. // *Science (80-. )*. 2006. V. 313. N. 5794. P. 1781–1784.

334. Meyer P.M., Tiepolt S., Barthel H., Hesse S., Sabri O. Radioligand imaging of  $\alpha 4\beta 2^*$  nicotinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. // *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2014. V. 58. N. 4. P. 376–86.

335. Miguel-Hidalgo J., Alvarez X., Cacabelos R., Quack G. Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by  $\beta$ -amyloid(1–40). // *Brain Res.* 2002. V. 958. N. 1. P. 210–221.

336. Mimori Y., Katsuoka H., Nakamura S. Thiamine therapy in Alzheimer's disease. // *Metab. Brain Dis.* 1996. V. 11. N. 1. P. 89–94.

337. Mishra S., Palanivelu K. The effect of curcumin (turmeric) on Alzheimer's disease: An overview. // *Ann. Indian Acad. Neurol.* 2008. V. 11. N. 1. P. 13.

338. Mitra S., Behbahani H., Eriksdotter M. Innovative Therapy for Alzheimer's Disease-With Focus on Biodelivery of NGF. // *Front. Neurosci.* 2019. V. 13.

339. Mondal A., Bose S., Banerjee S., Pal D. Role of  $\gamma$ -Secretase Inhibitors for the Treatment of Diverse Disease Conditions through Inhibition of Notch Signaling Pathway. // *Curr. Drug Targets.* 2021. V. 22. N. 15. P. 1799–1807.

340. Monday H.R., Younts T.J., Castillo P.E. Long-Term Plasticity of

Neurotransmitter Release: Emerging Mechanisms and Contributions to Brain Function and Disease. // *Annu. Rev. Neurosci.* 2018. V. 41. N. 1. P. 299–322.

341. Mondragón-Rodríguez S., Perry G., Zhu X., Moreira P.I., Acevedo-Aquino M.C., Williams S. Phosphorylation of Tau Protein as the Link between Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Connectivity Failure: Implications for Alzheimer's Disease. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013. V. 2013. P. 1–6.

342. Mondragón-Rodríguez S., Salgado-Burgos H., Peña-Ortega F. Circuitry and Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease: A New Tau Hypothesis. // *Neural Plast.* 2020. V. 2020. P. 1–11.

343. Montine T.J., Phelps C.H., Beach T.G., Bigio E.H., Cairns N.J., Dickson D.W., Duyckaerts C., Frosch M.P., Masliah E., Mirra S.S., Nelson P.T., Schneider J.A., Thal D.R., Trojanowski J.Q., Vinters H. V., Hyman B.T. National institute on aging-Alzheimer's association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: A practical approach. // *Acta Neuropathol.* 2012. V. 123. N. 1. P. 1–11.

344. Moran P.M. Differential effects of scopolamine and mecamylamine on working and reference memory in the rat. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1993. V. 45. N. 3. P. 533–538.

345. More S., Kumar H., Cho D.-Y., Yun Y.-S., Choi D.-K. Toxin-Induced Experimental Models of Learning and Memory Impairment. // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17. N. 9. P. 1447.

346. Moresco E. Regulation of neuronal morphogenesis and synaptic function by Abl family kinases. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2003. V. 13. N. 5. P. 535–544.

347. Mostafa D.K., Ismail C.A., Ghareeb D.A. Differential metformin dose-dependent effects on cognition in rats: role of Akt. // *Psychopharmacology (Berl)*. 2016a. V. 233. N. 13. P. 2513–2524.

348. Mostafa D.K., Ismail C.A., Ghareeb D.A. Differential metformin dose-dependent effects on cognition in rats: role of Akt. // *Psychopharmacology (Berl)*. 2016b. V. 233. N. 13. P. 2513–2524.

349. Mufson E.J., Kroin J.S., Sendera T.J., Sobreviela T. Distribution and retrograde transport of trophic factors in the central nervous system: functional implications for the treatment of neurodegenerative diseases. // *Prog. Neurobiol.* 1999. V. 57. N. 4. P. 451–484.

350. Mufson E.J., Counts S.E., Ginsberg S.D., Mahady L., Perez S.E., Massa S.M., Longo F.M., Ikonovic M.D. Nerve Growth Factor Pathobiology During the Progression of Alzheimer's Disease. // *Front. Neurosci.* 2019. V. 13.

351. Mufson E.J., Conner J.M., Kordower J.H. Nerve growth factor in Alzheimer's disease: defective retrograde transport to nucleus basalis. // *Neuroreport*. 1995. V. 6. N. 7. P. 1063–1066.

352. Mugwagwa A.T., Gadaga L.L., Pote W., Tagwireyi D. Antiamnesic Effects of a Hydroethanolic Extract of *Crinum macowanii* on Scopolamine-Induced Memory

Impairment in Mice . // *J. Neurodegener. Dis.* 2015. V. 2015. P. 1–9.

353. Muñoz-Jiménez M., Zaarkti A., García-Arnés J.A., García-Casares N. Antidiabetic Drugs in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review. // *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 2020. V. 49. N. 5. P. 423–434.

354. Muralidar S., Ambi S.V., Sekaran S., Thirumalai D., Palaniappan B. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. V. 163. P. 1599–1617.

355. Muresan Z., Muresan V. Coordinated transport of phosphorylated amyloid- $\beta$  precursor protein and c-Jun NH2-terminal kinase–interacting protein-1. // *J. Cell Biol.* 2005. V. 171. N. 4. P. 615–625.

356. Mutisya E.M., Bowling A.C., Beal M.F. Cortical Cytochrome Oxidase Activity Is Reduced in Alzheimer's Disease. // *J. Neurochem.* 2002. V. 63. N. 6. P. 2179–2184.

357. Myers A., McGonigle P. Overview of Transgenic Mouse Models for Alzheimer's Disease. // *Curr. Protoc. Neurosci.* 2019. V. 89. N. 1.

358. Nagahara A.H., Mateling M., Kovacs I., Wang L., Eggert S., Rockenstein E., Koo E.H., Masliah E., Tuszynski M.H. Early BDNF treatment ameliorates cell loss in the entorhinal cortex of APP transgenic mice. // *J. Neurosci.* 2013. V. 33. N. 39. P. 15596–15602.

359. Nakamura S., Murayama N., Noshita T., Katsuragi R., Ohno T. Cognitive dysfunction induced by sequential injection of amyloid- $\beta$  and ibotenate into the bilateral hippocampus; protection by memantine and MK-801. // *Eur. J. Pharmacol.* 2006. V. 548. N. 1–3. P. 115–122.

360. Nasehi M., Mohammadi-Mahdiabadi-Hasani M.H., Ebrahimi-Ghiri M., Zarrindast M.R. Additive interaction between scopolamine and nitric oxide agents on immobility in the forced swim test but not exploratory activity in the hole-board. // *Psychopharmacology (Berl)*. 2019. V. 236. N. 11. P. 3353–3362.

361. Neuner S.M., Heuer S.E., Huentelman M.J., O'Connell K.M.S., Kaczorowski C.C. Harnessing Genetic Complexity to Enhance Translatability of Alzheimer's Disease Mouse Models: A Path toward Precision Medicine. // *Neuron*. 2019. V. 101. N. 3. P. 399–411.e5.

362. Neznanov N.G., Ananyeva N.I., Zalutskaya N.N., Andreev E. V., Akhmerova L.R., Ezhova R. V., Salomatina T.A., Stulov I.K. Neurovisualisation of the hippocampus: role in diagnosis of the early Alzheimer disease. // *V.M. BEKHTEREV Rev. PSYCHIATRY Med. Psychol.* 2019. N. 4. P. 3–11.

363. Ng L.F., Gruber J., Cheah I.K., Goo C.K., Cheong W.F., Shui G., Sit K.P., Wenk M.R., Halliwell B. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ extends lifespan and improves healthspan of a transgenic *Caenorhabditis elegans* model of Alzheimer disease. // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. V. 71. P. 390–401.

364. Ng T., Ho C., Tam W., Kua E., Ho R. Decreased Serum Brain-Derived

Neurotrophic Factor (BDNF) Levels in Patients with Alzheimer's Disease (AD): A Systematic Review and Meta-Analysis. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. N. 2. P. 257.

365. Ng Y.P., Lo K.Y., Cheung Z.H.Y., Ip N.Y.-Y. Signaling through the neurotrophin receptors. // *Handb. Neurochem. Mol. Neurobiol. Neuroact. Proteins Pept.* 2006.

366. Nguyen T.-V. V., Shen L., Griend L. Vander, Quach L.N., Belichenko N.P., Saw N., Yang T., Shamloo M., Wyss-Coray T., Massa S.M., Longo F.M. Small Molecule p75NTR Ligands Reduce Pathological Phosphorylation and Misfolding of Tau, Inflammatory Changes, Cholinergic Degeneration, and Cognitive Deficits in A $\beta$ PPL/S Transgenic Mice. // *J. Alzheimer's Dis.* 2014. V. 42. N. 2. P. 459–483.

367. Nguyen T.-V. V., Crumpacker R.H., Calderon K.E., Garcia F.G., Zbesko J.C., Frye J.B., Gonzalez S., Bechtel D.A., Yang T., Tavera-Garcia M.A., Morrison H.W., Schnellmann R.G., Longo F.M., Doyle K.P. Post-Stroke Administration of the p75 Neurotrophin Receptor Modulator, LM11A-31, Attenuates Chronic Changes in Brain Metabolism, Increases Neurotransmitter Levels, and Improves Recovery. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2022. V. 380. N. 2. P. 126–141.

368. Nguyen T.L., Kim C.K., Cho J.-H., Lee K.-H., Ahn J.-Y. Neuroprotection signaling pathway of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor against staurosporine induced apoptosis in hippocampal H19-7 cells. // *Exp. Mol. Med.* 2010. V. 42. N. 8. P. 583.

369. Nie S., Xu Y., Chen G., Ma K., Han C., Guo Z., Zhang Z., Ye K., Cao X. Small molecule TrkB agonist deoxygedunin protects nigrostriatal dopaminergic neurons from 6-OHDA and MPTP induced neurotoxicity in rodents. // *Neuropharmacology.* 2015. V. 99. P. 448–458.

370. Niewiadomska G., Mietelska-Porowska A., Mazurkiewicz M. The cholinergic system, nerve growth factor and the cytoskeleton. // *Behav. Brain Res.* 2011. V. 221. N. 2. P. 515–526.

371. Nigam, Kulshreshtha M., Panjwani D. Pharmacological evaluation of *Hibiscus abelmoschus* against scopolamine-induced amnesia and cognitive impairment in mice. // *Adv. Hum. Biol.* 2019. V. 9. N. 2. P. 116.

372. O'Brien R.J., Wong P.C. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. // *Annu. Rev. Neurosci.* 2011. V. 34. N. 1. P. 185–204.

373. O'Leary P.D., Hughes R.A. Structure-Activity Relationships of Conformationally Constrained Peptide Analogues of Loop 2 of Brain-Derived Neurotrophic Factor. // *J. Neurochem.* 1998. V. 70. N. 4. P. 1712–1721.

374. O'Leary P.D., Hughes R.A. Design of Potent Peptide Mimetics of Brain-derived Neurotrophic Factor. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. N. 28. P. 25738–25744.

375. Oakley H., Cole S.L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Eldik L. Van, Berry R., Vassar R. Intraneuronal  $\beta$ -Amyloid Aggregates, Neurodegeneration, and Neuron Loss in Transgenic Mice with

Five Familial Alzheimer's Disease Mutations: Potential Factors in Amyloid Plaque Formation. // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. N. 40. P. 10129–10140.

376. Ollat H., Laurent B., Bakchine S., Michel B.-F., Touchon J., Dubois B. [Effects of the association of sulbutiamine with an acetylcholinesterase inhibitor in early stage and moderate Alzheimer disease]. // *Encephale.* 2007. V. 33. N. 2. P. 211–5.

377. Ostrovskaya R.U., Yagubova S.S., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. Low-Molecular-Weight NGF Mimetic Corrects the Cognitive Deficit and Depression-like Behavior in Experimental Diabetes. // *Acta Naturae.* 2017. V. 9. N. 2. P. 94–102.

378. Ostrovskaya R.U., Belnik A.P., Storozheva Z.I. Noopept efficiency in experimental Alzheimer disease (cognitive deficiency caused by  $\beta$ -amyloid<sub>25–35</sub> injection into Meynert basal nuclei of rats). // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. V. 146. N. 1. P. 77–80.

379. Oudin A. Short review: Air pollution, noise and lack of greenness as risk factors for Alzheimer's disease- epidemiologic and experimental evidence. // *Neurochem. Int.* 2020. V. 134. P. 104646.

380. Paiardini A., Caputo V. Insights into the interaction of sortilin with proneurotrophins: a computational approach. // *Neuropeptides.* 2008. V. 42. N. 2. P. 205–14.

381. Pakaski M., Kalman J. Interactions between the amyloid and cholinergic mechanisms in Alzheimer's disease. // *Neurochem. Int.* 2008. V. 53. N. 5. P. 103–111.

382. Pan X., Gong N., Zhao J., Yu Z., Gu F., Chen J., Sun X., Zhao L., Yu M., Xu Z., Dong W., Qin Y., Fei G., Zhong C., Xu T.-L. Powerful beneficial effects of benfotiamine on cognitive impairment and beta-amyloid deposition in amyloid precursor protein/presenilin-1 transgenic mice. // *Brain.* 2010. V. 133. N. Pt 5. P. 1342–51.

383. Parachikova A., Green K.N., Hendrix C., LaFerla F.M. Formulation of a medical food cocktail for Alzheimer's disease: beneficial effects on cognition and neuropathology in a mouse model of the disease. // *PLoS One.* 2010. V. 5. N. 11. P. e14015.

384. Park J., Wetzel I., Marriott I., Dréau D., D'Avanzo C., Kim D.Y., Tanzi R.E., Cho H. A 3D human triculture system modeling neurodegeneration and neuroinflammation in Alzheimer's disease. // *Nat. Neurosci.* 2018. V. 21. N. 7. P. 941–951.

385. Park S.-J., Kim Y.-H., Nam G.-H., Choe S.-H., Lee S.-R., Kim S.-U., Kim J.-S., Sim B.-W., Song B.-S., Jeong K.-J., Lee Y., Park Y., Lee K.-M., Huh J.-W., Chang K.-T. Quantitative Expression Analysis of APP Pathway and Tau Phosphorylation-Related Genes in the ICV STZ-Induced Non-Human Primate Model of Sporadic Alzheimer's Disease. // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. V. 16. N. 2. P. 2386–2402.

386. Parnetti L., Amici S., Lanari A., Romani C., Antognelli C., Andreasen N., Minthon L., Davidsson P., Pottel H., Blennow K., Gallai V. Cerebrospinal fluid levels of biomarkers and activity of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase in AD

patients before and after treatment with different AChE inhibitors. // *Neurol. Sci.* 2002. V. 23. P. s95–s96.

387. Pentz R., Iulita M.F., Mikutra-Cencora M., Ducatenzeiler A., Bennett D.A., Cuello A.C. A new role for matrix metalloproteinase-3 in the NGF metabolic pathway: Proteolysis of mature NGF and sex-specific differences in the continuum of Alzheimer's pathology. // *Neurobiol. Dis.* 2021a. V. 148. P. 105150.

388. Pentz R., Iulita M.F., Ducatenzeiler A., Bennett D.A., Cuello A.C. The human brain NGF metabolic pathway is impaired in the pre-clinical and clinical continuum of Alzheimers disease. // *Mol. Psychiatry.* 2021b. V. 26. N. 10. P. 6023–6037.

389. Pérez M., Hernández F., Gómez-Ramos A., Smith M., Perry G., Avila J. Formation of aberrant phosphotau fibrillar polymers in neural cultured cells. // *Eur. J. Biochem.* 2002. V. 269. N. 5. P. 1484–1489.

390. Perluigi M., Joshi G., Sultana R., Calabrese V., Marco C. De, Coccia R., Cini C., Butterfield D.A. In vivo protective effects of ferulic acid ethyl ester against amyloid-beta peptide 1–42-induced oxidative stress. // *J. Neurosci. Res.* 2006. V. 84. N. 2. P. 418–426.

391. Philipson O., Lord A., Gumucio A., O'Callaghan P., Lannfelt L., Nilsson L.N.G. Animal models of amyloid- $\beta$ -related pathologies in Alzheimer's disease. // *FEBS J.* 2010. V. 277. N. 6. P. 1389–1409.

392. Pilcher J.J., Sessions G.R., McBride S.A. Scopolamine impairs spatial working memory in the radial maze: An analysis by error type and arm choice. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1997. V. 58. N. 2. P. 449–459.

393. Pilipovich A.A., Danilov A.B. New strategies for diagnosis and treatment of Alzheimer's disease: monoclonal antibodies to beta-amyloid. // *Med. Alph.* 2019. V. 1. N. 2. P. 35–42.

394. Pir G.J., Choudhary B., Mandelkow E. *Caenorhabditis elegans* models of tauopathy. // *FASEB J.* 2017. V. 31. N. 12. P. 5137–5148.

395. Podleśny-Drabiniok A., Marcora E., Goate A.M. Microglial Phagocytosis: A Disease-Associated Process Emerging from Alzheimer's Disease Genetics. // *Trends Neurosci.* 2020. V. 43. N. 12. P. 965–979.

396. Polidori M., Nelles G. Antioxidant Clinical Trials in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's disease – Challenges and Perspectives. // *Curr. Pharm. Des.* 2014. V. 20. N. 18. P. 3083–3092.

397. Pooler A.M., Phillips E.C., Lau D.H.W., Noble W., Hanger D.P. Physiological release of endogenous tau is stimulated by neuronal activity. // *EMBO Rep.* 2013. V. 14. N. 4. P. 389–394.

398. Poon W.W., Carlos A.J., Aguilar B.L., Berchtold N.C., Kawano C.K., Zograbyan V., Yaoprake T., Shelanski M., Cotman C.W.  $\beta$ -Amyloid (A $\beta$ ) Oligomers Impair Brain-derived Neurotrophic Factor Retrograde Trafficking by Down-regulating Ubiquitin C-terminal Hydrolase, UCH-L1. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. N. 23. P.

16937–16948.

399. Poorheidari G., Pratt J.A., Dehghani N. Effects of low-dose scopolamine on locomotor activity: No dissociation between cognitive and non-effects. // *Neurosci. Res. Commun.* 2002. V. 31. N. 3. P. 165–174.

400. Porsteinsson A.P., Grossberg G.T., Mintzer J., Olin J.T., Memantine MEM-MD-12 Study Group. Memantine treatment in patients with mild to moderate Alzheimer's disease already receiving a cholinesterase inhibitor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. // *Curr. Alzheimer Res.* 2008. V. 5. N. 1. P. 83–9.

401. Porsteinsson A.P., Isaacson R.S., Knox S., Sabbagh M.N., Rubino I. Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. // *J. Prev. Alzheimer's Dis.* 2021. V. 8. N. 3. P. 371–386.

402. Povarnina P.Y., Nikifiriv D.M., Kotelnikova S.O., Kraineva V.A., Guydasheva T.A. Nootropic activity of brain-derived neurotrophic factor dipeptide mimetic GSB-106. // *Probl. Biol. Med. Pharm. Chem.* 2020. V. 23. N. 1.

403. Probst A., Götz J., Wiederhold K.H., Tolnay M., Mistl C., Jaton A.L., Hong M., Ishihara T., Lee V.M.-Y., Trojanowski J.Q., Jakes R., Crowther R.A., Spillantini M.G., Bürki K., Goedert M. Axonopathy and amyotrophy in mice transgenic for human four-repeat tau protein. // *Acta Neuropathol.* 2000. V. 99. N. 5. P. 469–481.

404. Puzzo D., Privitera L., Palmeri A. Hormetic effect of amyloid-beta peptide in synaptic plasticity and memory. // *Neurobiol. Aging.* 2012. V. 33. N. 7. P. 1484.e15-1484.e24.

405. Qi X.-L., Nordberg A., Xiu J., Guan Z.-Z. The consequences of reducing expression of the  $\alpha 7$  nicotinic receptor by RNA interference and of stimulating its activity with an  $\alpha 7$  agonist in SH-SY5Y cells indicate that this receptor plays a neuroprotective role in connection with the pathogenesis of Al. // *Neurochem. Int.* 2007. V. 51. N. 6–7. P. 377–383.

406. Rabiei Z., Joodaki R., Setorki M. Effects of ethanolic extract of *Artemisia persica* on scopolamine-induced cognitive impairment and anxiety in rats. // *J. Med. Plants.* 2020. V. 19. N. 73. P. 133–142.

407. Rafii M.S., Baumann T.L., Bakay R.A.E., Ostrove J.M., Siffert J., Fleisher A.S., Herzog C.D., Barba D., Pay M., Salmon D.P., Chu Y., Kordower J.H., Bishop K., Keator D., Potkin S., Bartus R.T. A phase I study of stereotactic gene delivery of AAV2-NGF for Alzheimer's disease. // *Alzheimer's Dement.* 2014. V. 10. N. 5. P. 571–581.

408. Rafii M.S., Tuszynski M.H., Thomas R.G., Barba D., Brewer J.B., Rissman R.A., Siffert J., Aisen P.S. Adeno-Associated Viral Vector (Serotype 2)–Nerve Growth Factor for Patients With Alzheimer Disease. // *JAMA Neurol.* 2018. V. 75. N. 7. P. 834.

409. Rai S., Kamat P.K., Nath C., Shukla R. A study on neuroinflammation and NMDA receptor function in STZ (ICV) induced memory impaired rats. // *J. Neuroimmunol.* 2013. V. 254. N. 1–2. P. 1–9.

410. Rai S., Kamat P.K., Nath C., Shukla R. Glial activation and post-synaptic

neurotoxicity: The key events in Streptozotocin (ICV) induced memory impairment in rats. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2014. V. 117. P. 104–117.

411. Rajasekar N., Dwivedi S., Nath C., Hanif K., Shukla R. Protection of streptozotocin induced insulin receptor dysfunction, neuroinflammation and amyloidogenesis in astrocytes by insulin. // *Neuropharmacology.* 2014. V. 86. P. 337–352.

412. Rajashri K., Mudhol S., Serva Peddha M., Borse B.B. Neuroprotective Effect of Spice Oleoresins on Memory and Cognitive Impairment Associated with Scopolamine-Induced Alzheimer's Disease in Rats. // *ACS Omega.* 2020. V. 5. N. 48. P. 30898–30905.

413. Ranjan V.D., Qiu L., Tan E.K., Zeng L., Zhang Y. Modelling Alzheimer's disease: Insights from in vivo to in vitro three-dimensional culture platforms. // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2018. V. 12. N. 9. P. 1944–1958.

414. Ravelli K.G., Rosário B. dos A., Camarini R., Hernandez M.S., Britto L.R. Intracerebroventricular Streptozotocin as a Model of Alzheimer's Disease: Neurochemical and Behavioral Characterization in Mice. // *Neurotox. Res.* 2017. V. 31. N. 3. P. 327–333.

415. Ray B., Maloney B., Sambamurti K., Karnati H.K., Nelson P.T., Greig N.H., Lahiri D.K. Rivastigmine modifies the  $\alpha$ -secretase pathway and potentially early Alzheimer's disease. // *Transl. Psychiatry.* 2020. V. 10. N. 1. P. 47.

416. Raymond C., Redman S., Crouch M. The phosphoinositide 3-kinase and p70 S6 kinase regulate long-term potentiation in hippocampal neurons. // *Neuroscience.* 2002. V. 109. N. 3. P. 531–536.

417. Redrobe J.P., Nielsen E.Ø., Christensen J.K., Peters D., Timmermann D.B., Olsen G.M.  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor activation ameliorates scopolamine-induced behavioural changes in a modified continuous Y-maze task in mice. // *Eur. J. Pharmacol.* 2009. V. 602. N. 1. P. 58–65.

418. Regehr W.G. Short-Term Presynaptic Plasticity. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. V. 4. N. 7. P. a005702–a005702.

419. Reger M.A., Watson G.S., Green P.S., Wilkinson C.W., Baker L.D., Cholerton B., Fishel M.A., Plymate S.R., Breitner J.C.S., DeGroot W., Mehta P., Craft S. Intranasal insulin improves cognition and modulates beta-amyloid in early AD. // *Neurology.* 2008. V. 70. N. 6. P. 440–8.

420. Reichardt L.F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2006a. V. 361. N. 1473. P. 1545–1564.

421. Reichardt L.F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 2006b. V. 361. N. 1473. P. 1545–1564.

422. Reitz C., Rogaeva E., Beecham G.W. Late-onset vs nonmendelian early-onset Alzheimer disease. // *Neurol. Genet.* 2020. V. 6. N. 5.

423. Richter N., Beckers N., Onur O.A., Dietlein M., Tittgemeyer M., Kracht L.,



Neumaier B., Fink G.R., Kukolja J. Effect of cholinergic treatment depends on cholinergic integrity in early Alzheimer's disease. // *Brain*. 2018. V. 141. N. 3. P. 903–915.

424. Ringman J.M., Frautschy S.A., Teng E., Begum A.N., Bardens J., Beigi M., Gylys K.H., Badmaev V., Heath D.D., Apostolova L.G., Porter V., Vanek Z., Marshall G.A., Hellemann G., Sugar C., Masterman D.L., Montine T.J., Cummings J.L., Cole G.M. Oral curcumin for Alzheimer's disease: tolerability and efficacy in a 24-week randomized, double blind, placebo-controlled study. // *Alzheimers. Res. Ther.* 2012. V. 4. N. 5. P. 43.

425. Riordan R., Rong W., Yu Z., Ross G., Valerio J., Dimas-Muñoz J., Heredia V., Magnusson K., Galvan V., Perez V.I. Effect of Nrf2 loss on senescence and cognition of tau-based P301S mice. // *GeroScience*. 2023.

426. Rodriguez-Tebar A., Barde Y. Binding characteristics of brain-derived neurotrophic factor to its receptors on neurons from the chick embryo. // *J. Neurosci.* 1988. V. 8. N. 9. P. 3337–3342.

427. Rodríguez J.J., Olabarria M., Chvatal A., Verkhratsky A. Astroglia in dementia and Alzheimer's disease. // *Cell Death Differ.* 2009. V. 16. N. 3. P. 378–385.

428. Roeck A. De, Broeckhoven C. Van, Slegers K. The role of ABCA7 in Alzheimer's disease: evidence from genomics, transcriptomics and methylomics. // *Acta Neuropathol.* 2019. V. 138. N. 2. P. 201–220.

429. Rogaev E.I. Genetic factors and a polygenic model of Alzheimer's disease. // *Genetika*. 1999. V. 35. N. 11. P. 1558–71.

430. Rosa E., Mahendram S., Ke Y.D., Ittner L.M., Ginsberg S.D., Fahnstock M. Tau downregulates BDNF expression in animal and cellular models of Alzheimer's disease. // *Neurobiol. Aging*. 2016. V. 48. P. 135–142.

431. Safar M.M., Arab H.H., Rizk S.M., El-Maraghy S.A. Bone Marrow-Derived Endothelial Progenitor Cells Protect Against Scopolamine-Induced Alzheimer-Like Pathological Aberrations. // *Mol. Neurobiol.* 2016. V. 53. N. 3. P. 1403–1418.

432. Sahoo B.R., Panda P.K., Liang W., Tang W.-J., Ahuja R., Ramamoorthy A. Degradation of Alzheimer's Amyloid- $\beta$  by a Catalytically Inactive Insulin-Degrading Enzyme. // *J. Mol. Biol.* 2021. V. 433. N. 13. P. 166993.

433. Salkovic-Petrisic M., Osmanovic-Barilar J., Brückner M.K., Hoyer S., Arendt T., Riederer P. Cerebral amyloid angiopathy in streptozotocin rat model of sporadic Alzheimer's disease: a long-term follow up study. // *J. Neural Transm.* 2011. V. 118. N. 5. P. 765–772.

434. Salkovic-Petrisic M., Hoyer S. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: An experimental approach. // *J. Neural Transm. Suppl.* 2007. N. 72. P. 217–233.

435. Salloway S., Sperling R., Fox N.C., Blennow K., Klunk W., Raskind M., Sabbagh M., Honig L.S., Porsteinsson A.P., Ferris S., Reichert M., Ketter N., Nejadnik

B., Guenzler V., Miloslavsky M., Wang D., Lu Y., Lull J., Tudor I.C., Liu E., Grundman M., Yuen E., Black R., Brashear H.R. Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. // *N. Engl. J. Med.* 2014. V. 370. N. 4. P. 322–333.

436. Samadi H., Sultzer D. Solanezumab for Alzheimer's disease. // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2011. V. 11. N. 6. P. 787–798.

437. Sandusky-Beltran L.A., Sigurdsson E.M. Tau immunotherapies: Lessons learned, current status and future considerations. // *Neuropharmacology.* 2020. V. 175. P. 108104.

438. Sano M., Ernesto C., Thomas R.G., Klauber M.R., Schafer K., Grundman M., Woodbury P., Growdon J., Cotman C.W., Pfeiffer E., Schneider L.S., Thal L.J. A Controlled Trial of Selegiline, Alpha-Tocopherol, or Both as Treatment for Alzheimer's Disease. // *N. Engl. J. Med.* 1997. V. 336. N. 17. P. 1216–1222.

439. Saraceno C., Musardo S., Marcello E., Pelucchi S., Luca M. Di. Modeling Alzheimer's disease: from past to future. // *Front. Pharmacol.* 2013. V. 4.

440. Sasi M., Vignoli B., Canossa M., Blum R. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling. // *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* 2017. V. 469. N. 5–6. P. 593–610.

441. Sayre L.M., Zelasko D.A., Harris P.L.R., Perry G., Salomon R.G., Smith M.A. 4-Hydroxynonenal-Derived Advanced Lipid Peroxidation End Products Are Increased in Alzheimer's Disease. // *J. Neurochem.* 2002. V. 68. N. 5. P. 2092–2097.

442. Scarpi D., Cirelli D., Matrone C., Castronovo G., Rosini P., Occhiato E.G., Romano F., Bartali L., Clemente A.M., Bottegoni G., Cavalli A., Chiara G. De, Bonini P., Calissano P., Palamara A.T., Garaci E., Torcia M.G., Guarna A., Cozzolino F. Low molecular weight, non-peptidic agonists of TrkA receptor with NGF-mimetic activity. // *Cell Death Dis.* 2012. V. 3. N. 7. P. e339–e339.

443. Schmitz T.W., Nathan Spreng R., Weiner M.W., Aisen P., Petersen R., Furst A.J., et al. Basal forebrain degeneration precedes and predicts the cortical spread of Alzheimer's pathology. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. N. 1. P. 13249.

444. Schneeberger A., Mandler M., Otava O., Zauner W., Mattner F., Schmidt W. Development of AFFITOPE vaccines for Alzheimer's disease (AD) — From concept to clinical testing. // *J. Nutr. Heal. Aging.* 2009. V. 13. N. 3. P. 264–267.

445. Scott S., Mufson E., Weingartner J., Skau K., Crutcher K. Nerve growth factor in Alzheimer's disease: increased levels throughout the brain coupled with declines in nucleus basalis. // *J. Neurosci.* 1995. V. 15. N. 9. P. 6213–6221.

446. Selkoe D.J. The molecular pathology of Alzheimer's disease. // *Neuron.* 1991. V. 6. N. 4. P. 487–498.

447. Selkoe D.J., Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. // *EMBO Mol. Med.* 2016. V. 8. N. 6. P. 595–608.

448. Sharma N.S., Karan A., Lee D., Yan Z., Xie J. Advances in Modeling

Alzheimer's Disease In Vitro. // *Adv. NanoBiomed Res.* 2021. V. 1. N. 12.

449. Shemesh E., Rudich A., Harman-Boehm I., Cukierman-Yaffe T. Effect of intranasal insulin on cognitive function: a systematic review. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012. V. 97. N. 2. P. 366–76.

450. Shi J., Longo F.M., Massa S.M. A small molecule p75NTR ligand protects neurogenesis after traumatic brain injury. // *Stem Cells.* 2013. V. 31. N. 11. P. 2561–2574.

451. Shi Y., Kirwan P., Smith J., MacLean G., Orkin S.H., Livesey F.J. A Human Stem Cell Model of Early Alzheimer's Disease Pathology in Down Syndrome. // *Sci. Transl. Med.* 2012. V. 4. N. 124.

452. Shooter E.M. Early Days of the Nerve Growth Factor Proteins. // *Annu. Rev. Neurosci.* 2001. V. 24. N. 1. P. 601–629.

453. Singh P., Konar A., Kumar A., Srivas S., Thakur M.K. Hippocampal chromatin-modifying enzymes are pivotal for scopolamine-induced synaptic plasticity gene expression changes and memory impairment. // *J. Neurochem.* 2015. V. 134. N. 4. P. 642–651.

454. Smith L.M., Kostylev M.A., Lee S., Strittmatter S.M. Systematic and standardized comparison of reported amyloid- $\beta$  receptors for sufficiency, affinity, and Alzheimer's disease relevance. // *J. Biol. Chem.* 2019. V. 294. N. 15. P. 6042–6053.

455. Sofroniew M. V., Howe C.L., Mobley W.C. Nerve growth factor signaling, neuroprotection, and neural repair. // *Annu. Rev. Neurosci.* 2001. V. 24. P. 1217–81.

456. Sola I., Aso E., Frattini D., López-González I., Espargaró A., Sabaté R., Pietro O. Di, Luque F.J., Clos M.V., Ferrer I., Muñoz-Torrero D. Novel Levetiracetam Derivatives That Are Effective against the Alzheimer-like Phenotype in Mice: Synthesis, in Vitro, ex Vivo, and in Vivo Efficacy Studies. // *J. Med. Chem.* 2015. V. 58. N. 15. P. 6018–6032.

457. Soldano A., Hassan B.A. Beyond pathology: APP, brain development and Alzheimer's disease. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2014. V. 27. P. 61–67.

458. Sonawane S.K., Chinnathambi S. Prion-Like Propagation of Post-Translationally Modified Tau in Alzheimer's Disease: A Hypothesis. // *J. Mol. Neurosci.* 2018. V. 65. N. 4. P. 480–490.

459. Song C., Shi J., Zhang P., Zhang Y., Xu J., Zhao L., Zhang R., Wang H., Chen H. Immunotherapy for Alzheimer's disease: targeting  $\beta$ -amyloid and beyond. // *Transl. Neurodegener.* 2022. V. 11. N. 1. P. 18.

460. Sorial M.E., Sayed N.S.E.D. El. Protective effect of valproic acid in streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease mouse model: possible involvement of the cholinergic system. // *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2017. V. 390. N. 6. P. 581–593.

461. Spasov A.A., Divaeva L.N., Mal'tsev D. V, Kuzmenko T.A., Morkovnik A.S.,

Miroshnikov M. V., Taran A.S., Zolotova E.A. The anxiolytic potential of a new series of diazepamobenzimidazole derivatives. // *J. Volgogr. State Med. Univ.* 2018. V. 15. N. 3. P. 19–23.

462. Spector R., Johanson C.E. REVIEW: Vitamin transport and homeostasis in mammalian brain: focus on Vitamins B and E. // *J. Neurochem.* 2007. V. 103. N. 2. P. 425–438.

463. Spuch C., Antequera D., Isabel Fernandez-Bachiller M., Isabel Rodríguez-Franco M., Carro E. A New Tacrine–Melatonin Hybrid Reduces Amyloid Burden and Behavioral Deficits in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. // *Neurotox. Res.* 2010. V. 17. N. 4. P. 421–431.

464. Stelmashook E. V., Aleksandrova O.P., Rogozin P.D., Genrikhs E.E., Novikova S. V., Gudasheva T.A., Sharonova I.N., Skrebitsky V.G., Isaev N.K. GK-2 Reduces Death of Cultured Granule Neurons in Cerebellum Induced by the Toxic Effects of Zinc Ions. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020. V. 168. N. 4. P. 474–478.

465. Stepanichev M.Y., Zdobnova I.M., Zarubenko I.I., Moiseeva Y. V., Lazareva N.A., Onufriev M. V., Gulyaeva N. V. Amyloid- $\beta$ (25–35)-induced memory impairments correlate with cell loss in rat hippocampus. // *Physiol. Behav.* 2004. V. 80. N. 5. P. 647–655.

466. Stöhr J., Watts J.C., Mensinger Z.L., Oehler A., Grillo S.K., DeArmond S.J., Prusiner S.B., Giles K. Purified and synthetic Alzheimer's amyloid beta ( $A\beta$ ) prions. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012. V. 109. N. 27. P. 11025–11030.

467. Stover K.R., Campbell M.A., Winssen C.M. Van, Brown R.E. Early detection of cognitive deficits in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease. // *Behav. Brain Res.* 2015. V. 289. P. 29–38.

468. Sun X.-Y., Wei Y.-P., Xiong Y., Wang X.-C., Xie A.-J., Wang X.-L., Yang Y., Wang Q., Lu Y.-M., Liu R., Wang J.-Z. Synaptic Released Zinc Promotes Tau Hyperphosphorylation by Inhibition of Protein Phosphatase 2A (PP2A). // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. N. 14. P. 11174–11182.

469. Switon K., Kotulska K., Janusz-Kaminska A., Zmorzynska J., Jaworski J. Molecular neurobiology of mTOR. // *Neuroscience.* 2017. V. 341. P. 112–153.

470. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. // *Physiol. Res.* 2001. V. 50. N. 6. P. 537–46.

471. Takada-Takatori Y., Kume T., Sugimoto M., Katsuki H., Sugimoto H., Akaike A. Acetylcholinesterase inhibitors used in treatment of Alzheimer's disease prevent glutamate neurotoxicity via nicotinic acetylcholine receptors and phosphatidylinositol 3-kinase cascade. // *Neuropharmacology.* 2006. V. 51. N. 3. P. 474–486.

472. Tamagno E., Robino G., Obbili A., Bardini P., Aragno M., Parola M., Danni O. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 4-hydroxynonenal mediate amyloid  $\beta$ -induced neuronal apoptosis by activating jnks and p38mapk. // *Exp. Neurol.* 2003. V. 180. N. 2. P. 144–155.

473. Tanaka T., Saito H., Matsuki N. Inhibition of GABA A Synaptic Responses

by Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Rat Hippocampus. // *J. Neurosci.* 1997. V. 17. N. 9. P. 2959–2966.

474. Tang K.S. The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: A model of Alzheimer's biomarkers. // *Life Sci.* 2019. V. 233. P. 116695.

475. Tanila H. The role of BDNF in Alzheimer's disease // *Neurobiol. Dis.* 2017. T. 97. C. 114–118.

476. Tapia-Arancibia L., Aliaga E., Silhol M., Arancibia S. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. // *Brain Res. Rev.* 2008. V. 59. N. 1. P. 201–220.

477. Tapley P., Lamballe F., Barbacid M. K252a is a selective inhibitor of the tyrosine protein kinase activity of the trk family of oncogenes and neurotrophin receptors. // *Oncogene.* 1992. V. 7. N. 2. P. 371–81.

478. Teixeira J.P., Castro A.A. de, Soares F. V., Cunha E.F.F. da, Ramalho T.C. Future Therapeutic Perspectives into the Alzheimer's Disease Targeting the Oxidative Stress Hypothesis. // *Molecules.* 2019. V. 24. N. 23. P. 4410.

479. Thomsen M. Locomotor activating effects of cocaine and scopolamine combinations in rats: Isobolographic analysis. // *Behav. Pharmacol.* 2014. V. 25. N. 4. P. 259–266.

480. Tinsley C.J., Fontaine-Palmer N.S., Vincent M., Endean E.P.E., Aggleton J.P., Brown M.W., Warburton E.C. Differing time dependencies of object recognition memory impairments produced by nicotinic and muscarinic cholinergic antagonism in perirhinal cortex. // *Learn. Mem.* 2011. V. 18. N. 7. P. 484–492.

481. Tiwari V., Mishra A., Singh S., Mishra S.K., Sahu K.K., Parul, Kulkarni M.J., Shukla R., Shukla S. Protriptyline improves spatial memory and reduces oxidative damage by regulating NFκB-BDNF/CREB signaling axis in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. // *Brain Res.* 2021. V. 1754. P. 147261.

482. Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1979. V. 76. N. 9. P. 4350–4.

483. Tsuruta F., Masuyama N., Gotoh Y. The Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)-Akt Pathway Suppresses Bax Translocation to Mitochondria. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. N. 16. P. 14040–14047.

484. Tuszynski M.H., Thal L., Pay M., Salmon D.P., U H.S., Bakay R., Patel P., Blesch A., Vahlsing H.L., Ho G., Tong G., Potkin S.G., Fallon J., Hansen L., Mufson E.J., Kordower J.H., Gall C., Conner J. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. // *Nat. Med.* 2005. V. 11. N. 5. P. 551–555.

485. Uddin M.S., Stachowiak A., Mamun A. Al, Tzvetkov N.T., Takeda S., Atanasov A.G., Bergantin L.B., Abdel-Daim M.M., Stankiewicz A.M. Autophagy and Alzheimer's Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Implications. // *Front.*

Aging Neurosci. 2018. V. 0. N. JAN. P. 4.

486. Uddin M.S., Kabir M.T., Rahman M.S., Behl T., Jeandet P., Ashraf G.M., Najda A., Bin-Jumah M.N., El-Seedi H.R., Abdel-Daim M.M. Revisiting the Amyloid Cascade Hypothesis: From Anti-A $\beta$  Therapeutics to Auspicious New Ways for Alzheimer's Disease. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. N. 16. P. 5858.

487. Valuskova P., Riljak V., Forczek S.T., Farar V., Myslivecek J. Variability in the Drug Response of M4 Muscarinic Receptor Knockout Mice During Day and Night Time. // *Front. Pharmacol.* 2019. V. 10. P. 237.

488. Venkatesan R., Subedi L., Yeo E.-J., Kim S.Y. Lactucopicrin ameliorates oxidative stress mediated by scopolamine-induced neurotoxicity through activation of the NRF2 pathway. // *Neurochem. Int.* 2016. V. 99. P. 133–146.

489. Wan Chik M., Ramli N.A., Mohamad Nor Hazalin N.A., Surindar Singh G.K. Streptozotocin mechanisms and its role in rodent models for Alzheimer's disease. // *Toxin Rev.* 2023. V. 42. N. 1. P. 491–502.

490. Wang L., Liu W., Fan Y., Liu T., Yu C. Effect of rosiglitazone on amyloid precursor protein processing and A $\beta$  clearance in streptozotocin-induced rat model of Alzheimer's disease. // *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2017. V. 20. N. 5. P. 474–480.

491. Wang S.-H., Liao X.-M., Liu D., Hu J., Yin Y.-Y., Wang J.-Z., Zhu L.-Q. NGF promotes long-term memory formation by activating poly(ADP-ribose)polymerase-1. // *Neuropharmacology.* 2012. V. 63. N. 6. P. 1085–1092.

492. Wang X., Bauer J.H., Li Y., Shao Z., Zetoune F.S., Cattaneo E., Vincenz C. Characterization of a p75NTR Apoptotic Signaling Pathway Using a Novel Cellular Model. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. N. 36. P. 33812–33820.

493. Wang X.H., Li L., Hölscher C., Pan Y.F., Chen X.R., Qi J.S. Val8-glucagon-like peptide-1 protects against A $\beta$ 1-40-induced impairment of hippocampal late-phase long-term potentiation and spatial learning in rats. // *Neuroscience.* 2010. V. 170. N. 4. P. 1239–48.

494. Wang Y., Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2016. V. 17. N. 1. P. 22–35.

495. Wang Z.H., Xiang J., Liu X., Yu S.P., Manfredsson F.P., Sandoval I.M., Wu S., Wang J.Z., Ye K. Deficiency in BDNF/TrkB Neurotrophic Activity Stimulates  $\delta$ -Secretase by Upregulating C/EBP $\beta$  in Alzheimer's Disease. // *Cell Rep.* 2019. V. 28. N. 3. P. 655.

496. Watanabe H., Shimizu H. Effect of Anticholinergic Drugs on Striatal Acetylcholine Release and Motor Activity in Freely Moving Rats Studied by Brain Microdialysis. // *Jpn. J. Pharmacol.* 1989. V. 51. N. 1. P. 75–82.

497. Wehrman T., He X., Raab B., Dukipatti A., Blau H., Garcia K.C. Structural and Mechanistic Insights into Nerve Growth Factor Interactions with the TrkA and p75 Receptors. // *Neuron.* 2007. V. 53. N. 1. P. 25–38.

498. Weller J., Budson A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment // *F1000Research*. 2018. T. 7.

499. Wenner M.M. Sympathetic activation in chronic anxiety: not just at the “height” of stress. Editorial Focus on “Relative burst amplitude of muscle sympathetic nerve activity is an indicator of altered sympathetic outflow in chronic anxiety”. // *J. Neurophysiol.* 2018. V. 120. N. 1. P. 7–8.

500. Willem M., Dewachter I., Smyth N., Dooren T. Van, Borghgraef P., Haass C., Leuven F. Van.  $\beta$ -Site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 increases amyloid deposition in brain parenchyma but reduces cerebrovascular amyloid angiopathy in aging BACE x APP[V717I] double-transgenic mice. // *Am. J. Pathol.* 2004. V. 165. N. 5. P. 1621–1631.

501. Winterburn J.L., Pruessner J.C., Chavez S., Schira M.M., Lobaugh N.J., Voineskos A.N., Chakravarty M.M. A novel in vivo atlas of human hippocampal subfields using high-resolution 3T magnetic resonance imaging. // *Neuroimage*. 2013. V. 74. P. 254–265.

502. Wischik C.M., Bentham P., Wischik D.J., Seng K.M. O3-04-07: Tau aggregation inhibitor (TAI) therapy with rember<sup>TM</sup> arrests disease progression in mild and moderate Alzheimer's disease over 50 weeks. // *Alzheimer's Dement.* 2008. V. 4. N. 4S\_Part\_5.

503. Wu H.-M., Tzeng N.-S., Qian L., Wei S.-J., Hu X., Chen S.-H., Rawls S.M., Flood P., Hong J.-S., Lu R.-B. Novel Neuroprotective Mechanisms of Memantine: Increase in Neurotrophic Factor Release from Astroglia and Anti-Inflammation by Preventing Microglial Activation. // *Neuropsychopharmacology*. 2009. V. 34. N. 10. P. 2344–2357.

504. Wu J., Ishikawa M., Zhang J., Hashimoto K. Brain Imaging of Nicotinic Receptors in Alzheimer's Disease. // *Int. J. Alzheimers. Dis.* 2010. V. 2010. P. 1–11.

505. Xhima K., Markham-Coultes K., Hahn Kofoed R., Saragovi H.U., Hynynen K., Aubert I. Ultrasound delivery of a TrkA agonist confers neuroprotection to Alzheimer-associated pathologies. // *Brain*. 2022. V. 145. N. 8. P. 2806–2822.

506. Xia E., Xu F., Hu C., Kumal J.P.P., Tang X., Mao D., Li Y., Wu D., Zhang R., Wu S., Sun L. Young Blood Rescues the Cognition of Alzheimer's Model Mice by Restoring the Hippocampal Cholinergic Circuit. // *Neuroscience*. 2019. V. 417. P. 57–69.

507. Xie Y., Meeker R.B., Massa S.M., Longo F.M. Modulation of the p75 neurotrophin receptor suppresses age-related basal forebrain cholinergic neuron degeneration. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. N. 1. P. 5273.

508. Xu C.-J., Wang J.-L., Jin W.-L. The Emerging Therapeutic Role of NGF in Alzheimer's Disease. // *Neurochem. Res.* 2016. V. 41. N. 6. P. 1211–1218.

509. Yagi T., Ito D., Okada Y., Akamatsu W., Nihei Y., Yoshizaki T., Yamanaka S., Okano H., Suzuki N. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. // *Hum. Mol. Genet.* 2011. V. 20. N. 23. P. 4530–4539.

510. Yagubova S.S., Ostrovskaya R.U., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. The PI3K/Akt Cascade Is Involved in the Antidiabetic Effect of Compound GSB-214, a Low-Molecular-Weight BDNF Mimetic. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020. V. 169. N. 6. P. 771–774.
511. Yan Q., Radeke M.J., Matheson C.R., Talvenheimo J., Welcher A.A., Feinstein S.C. Immunocytochemical localization of TrkB in the central nervous system of the adult rat. // *J. Comp. Neurol.* 1997. V. 378. N. 1. P. 135–57.
512. Yang J., Dungrawala H., Hua H., Manukyan A., Abraham L., Lane W., Mead H., Wright J., Schneider B.L. Cell size and growth rate are major determinants of replicative lifespan. // *Cell Cycle.* 2011. V. 10. N. 1. P. 144–55.
513. Yang T., Knowles J.K., Lu Q., Zhang H., Arancio O., Moore L.A., Chang T., Wang Q., Andreasson K., Rajadas J., Fuller G.G., Xie Y., Massa S.M., Longo F.M. Small Molecule, Non-Peptide p75<sup>NTR</sup> Ligands Inhibit A $\beta$ -Induced Neurodegeneration and Synaptic Impairment. // *PLoS One.* 2008. V. 3. N. 11. P. e3604.
514. Yang Y., Ma D., Wang Y., Jiang T., Hu S., Zhang M., Yu X., Gong C.-X. Intranasal insulin ameliorates tau hyperphosphorylation in a rat model of type 2 diabetes. // *J. Alzheimers. Dis.* 2013. V. 33. N. 2. P. 329–38.
515. Yetunde O.A., Olusegun Oyewole O., James O.O. Subchronic Amitriptyline Influences Open-field Behaviours and Spontaneous Working-memory in Healthy Mice. // *Adv. Pharmacol. Pharm.* 2017. V. 5. N. 1. P. 1–11.
516. Yi F., Ball J., Stoll K.E., Satpute V.C., Mitchell S.M., Pauli J.L., Holloway B.B., Johnston A.D., Nathanson N.M., Deisseroth K., Gerber D.J., Tonegawa S., Lawrence J.J. Direct excitation of parvalbumin-positive interneurons by M1 muscarinic acetylcholine receptors: Roles in cellular excitability, inhibitory transmission and cognition. // *J. Physiol.* 2014. V. 592. N. 16. P. 3463–3494.
517. Ying S.-W., Futter M., Rosenblum K., Webber M.J., Hunt S.P., Bliss T.V.P., Bramham C.R. Brain-Derived Neurotrophic Factor Induces Long-Term Potentiation in Intact Adult Hippocampus: Requirement for ERK Activation Coupled to CREB and Upregulation of Arc Synthesis. // *J. Neurosci.* 2002. V. 22. N. 5. P. 1532–1540.
518. Yong He, Zhang Chen, Gaolang Gong, Evans A. Neuronal Networks in Alzheimer's Disease. // *Neurosci.* 2009. V. 15. N. 4. P. 333–350.
519. Youmans K.L., Tai L.M., Nwabuisi-Heath E., Jungbauer L., Kanekiyo T., Gan M., Kim J., Eimer W.A., Estus S., Rebeck G.W., Weeber E.J., Bu G., Yu C., LaDu M.J. APOE4-specific Changes in A $\beta$  Accumulation in a New Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. N. 50. P. 41774–41786.
520. Young-Pearse T.L., Chen A.C., Chang R., Marquez C., Selkoe D.J. Secreted APP regulates the function of full-length APP in neurite outgrowth through interaction with integrin beta1. // *Neural Dev.* 2008. V. 3. N. 1. P. 15.
521. Yu H.-J., Koh S.-H. The role of PI3K/AKT pathway and its therapeutic possibility in Alzheimer's disease. // *Hanyang Med. Rev.* 2017. V. 37. N. 1. P. 18–24.



522. Yu L., Jiang R., Su Q., Yu H., Yang J. Hippocampal neuronal metal ion imbalance related oxidative stress in a rat model of chronic aluminum exposure and neuroprotection of meloxicam. // *Behav. Brain Funct.* 2014. V. 10. N. 1. P. 6.

523. Zainullina L.F., Vakhitova Y. V., Lusta A.Y., Gudasheva T.A., Seredenin S.B. Dimeric mimetic of BDNF loop 4 promotes survival of serum-deprived cell through TrkB-dependent apoptosis suppression. // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. N. 1. P. 1–16.

524. Zampar S., Wirths O. Immunotherapy Targeting Amyloid- $\beta$  Peptides in Alzheimer's Disease // *Alzheimer's Disease: Drug Discovery.* : Exon Publications. C. 23–49.

525. Zhang L., Fang Y., Lian Y., Chen Y., Wu T., Zheng Y., Zong H., Sun L., Zhang R., Wang Z., Xu Y. Brain-Derived Neurotrophic Factor Ameliorates Learning Deficits in a Rat Model of Alzheimer's Disease Induced by A $\beta$ 1-42. // *PLoS One.* 2015. V. 10. N. 4. P. e0122415.

526. Zhang M.-W., Zhang S., Li Z.-H., Han F. 7,8-Dihydroxyflavone reverses the depressive symptoms in mouse chronic mild stress. // *Neurosci. Lett.* 2016. V. 635. P. 33–38.

527. Zhang S.J., Luo D., Li L., Tan R.R., Xu Q.Q., Qin J., Zhu L., Luo N.C., Xu T.T., Zhang R., Yang L., Wang Q. Ethyl Acetate Extract Components of Bushen-Yizhi Formula Provides Neuroprotection against Scopolamine-induced Cognitive Impairment. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. N. 1.

528. Zhang X.-X., Tian Y., Wang Z.-T., Ma Y.-H., Tan L., Yu J.-T. The Epidemiology of Alzheimer's Disease Modifiable Risk Factors and Prevention. // *J. Prev. Alzheimer's Dis.* 2021. P. 1–9.

529. Zhang Z., Liu X., Schroeder J.P., Chan C.-B., Song M., Yu S.P., Weinschenker D., Ye K. 7,8-Dihydroxyflavone Prevents Synaptic Loss and Memory Deficits in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. // *Neuropsychopharmacology.* 2014. V. 39. N. 3. P. 638–650.

530. Zheng H., Koo E.H. The amyloid precursor protein: beyond amyloid. // *Mol. Neurodegener.* 2006. V. 1. P. 5.

531. Zheng M., Wang P. Role of insulin receptor substance-1 modulating PI3K/Akt insulin signaling pathway in Alzheimer's disease. // *3 Biotech.* 2021. V. 11. N. 4. P. 179.

532. Zhiling Y., T M., K H. Effect of acute and chronic scopolamine and morphine on memory in mice using a Y-maze spontaneous alternation task. // *J. China Pharm. Univ.* 1996. V. 27. N. 11. P. 680–686.

533. Zhou X., Xiao W., Su Z., Cheng J., Zheng C., Zhang Z., Wang Y., Wang L., Xu B., Li S., Yang X., Pui Man Hoi M. Hippocampal Proteomic Alteration in Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease and Implication of PINK 1 Regulation in Donepezil Treatment. // *J. Proteome Res.* 2019. V. 18. N. 4. P. 1542–1552.