

ISSN 1027-8133

Том 40, Номер 2

Апрель - Май - Июнь
2023



НЕЙРОХИМИЯ



www.sciencejournals.ru



СОДЕРЖАНИЕ

Том 40, номер 2, 2023

Механизмы действия ноотропных препаратов: общие и специфические мишени

(спецвыпуск)

Редактор Г. И. Ковалев

Обзоры

Истоки и предпосылки создания концепции ноотропов

П. Д. Шабанов 101

Создание и исследование механизма действия соединений нового класса
положительных модуляторов AMPA-рецепторов – производных
3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов

*В. В. Григорьев, М. И. Лавров, В. А. Палюлин,
Т. Л. Гарибова, К. В. Анохин, С. О. Бачурин* 108

Когнитивные нарушения и ноотропные препараты: механизм действия и спектр эффектов

Т. А. Воронина 121

Иризин на перекрестке механизмов аутофагии и сигналинга BDNF
в регуляции нейропластичности

Э. А. Андаржанова, Т. А. Воронина 132

Нарушения нервно-психического развития у детей: нейропластичность
и возможности применения ноотропов

Н. Н. Заваденко 146

Экспериментальные работы

Общие и специфические эффекты селанка, ноопепта и семакса на глициновый
сайт NMDA-рецепторов мозга мышей BALB/c и C57Bl/6

Е. В. Васильева, А. А. Абдуллина, Г. И. Ковалёв 157

Влияние низкомолекулярного миметика фактора роста нервов ГК-2
на когнитивные функции и свойства синаптической
передачи в срезах гиппокампа

*А. А. Волкова, П. Ю. Поварнина, П. Д. Rogozin, Р. В. Кондратенко,
И. Н. Шаронова, А. А. Каменский, В. Г. Скребицкий* 166

Фенибут, семакс и ГИЖ-290 модулируют mGluII-рецепторы коры мозга
на модели синдрома дефицита внимания у мышей

Н. А. Сухорукова, Е. В. Васильева, Г. И. Ковалёв 172

Влияние пираретама и ноопепта на NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторы мозга мышей
с врожденным дефицитом β-аррестина

Ю. Ю. Фирстова, Г. И. Ковалёв 179

Экспериментальные работы

Оценка экспрессии генов белков SNARE-комплекса в гиппокампе крыс
после действия моделируемых факторов космического полета

А. А. Перевезенцев, К. Б. Лебедева-Георгиевская, О. С. Кузнецова, А. С. Штемберг

186

Contents

Vol. 40, no. 2, 2023

Mechanisms of Action of Nootropic Drugs: General and Specific Targets

(Special Issue)

Ed. G. I. Kovalev

Review Articles

The Origins and Background of the Creation of the Nootropics Concept

P. D. Shabanov 101

Creation and Study of the Mechanism of Action of Compounds of a New Class of Positive Modulators of AMPA Receptors—Derivatives of 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonanes

*V. V. Grigoriev, M. I. Lavrov, V. A. Palyulin,
T. L. Garibova, K. V. Anokhin, and S. O. Bachurin* 108

Cognitive Impairment and Nootropic Drugs: Mechanism of Action and Spectrum of Effects

T. A. Voronina 121

Irisin at the Crossroad of Autophagy and BDNF Signaling for Neuroplasticity Regulation

E. A. Andyarzhanova and T. A. Voronina 132

Neurodevelopmental Disorders in Children: Neuroplasticity and Possibilities of Nootropic Pharmacotherapy

N. N. Zavadenko 146

Experimental Articles

Common and Specific Effects of Selank, Noopept, and Semax to Glycine Site of the NMDA Receptor in BALB/c and C57Bl/6 Mice Brain

E. V. Vasileva, A. A. Abdullina, and G. I. Kovalev 157

Effect of Low Molecular Weight Nerve Growth Factor Mimetic GK-2 on Cognitive Function and Synaptic Transmission in Hippocampal Slices

*A. A. Volkova, P. Yu. Povarnina, P. D. Rogozin, R. V. Kondratenko,
I. N. Sharonova, A. A. Kamensky, and V. G. Skrebitsky* 166

Phenibut, Semax and GIZh-290 Modulate Cortical mGluII Receptors in an Attention Deficit Model in Mice

N. A. Sukhorukova, E. V. Vasileva, and G. I. Kovalev 172

The Effect of Piracetam and Noopept on NMDA and 5-HT_{2A} Receptors in the Brain of Mice with Congenital β -Arrestin Deficiency

Yu. Yu. Firstova and G. I. Kovalev 179

Regular Articles

Experimental Articles

Estimated Gene Expression of SNARE Proteins in Hypocampus of Rats after Modelled Spaceflight

A. A. Perevezentsev, K. B. Lebedeva-Georgievskaya, O. S. Kuznetsova, and A. S. Shtemberg

186

ИСТОКИ И ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ КОНЦЕПЦИИ НООТРОПОВ

© 2023 г. П. Д. Шабанов*

ФГБНУ “Институт экспериментальной медицины”, Санкт-Петербург ФГБВОУ ВО
“Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова” МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 21.11.2022 г.

После доработки 29.11.2022 г.

Принята к публикации 16.12.2022 г.

Понятие ноотропов ввел в фармакологию в начале 1970-х гг. Корнелиу Джурджеа, бельгийский фармаколог румынского происхождения, на основе изучения производных 2-оксо-1-пирролидина, которые впоследствии получили название рацетамов. В работе обосновывается положение, что появлению современных представлений о ноотропах и аналогичных соединениях (психоэнергизаторах, антигипоксантах, актопротекторах) в определенном смысле предшествовала концепция адаптогенов Н.В. Лазарева (1953–1958), теоретическое развитие которой шло в сторону конкретизации отдельных положений данной концепции. Рассматривается становление проблемы ноотропов, их место в современной фармакологии, истоки и перспективы развития концепции, поиск новых фармакологических средств, обладающих ноотропными свойствами. Ноотропная активность анализируется с позиции механизмов действия рацетамов, нейропептидов, производных ГАМК, бензимидазолов.

Ключевые слова: ноотропы, адаптогены, рацетамы, производные ГАМК, нейропептиды, производные бензимидазола

DOI: 10.31857/S1027813323020127, EDN: UCVTWX

В начале 1950-х гг. Н.В. Лазарев, в то время возглавлявший кафедру фармакологии Военно-морской медицинской академии в Ленинграде, сформулировал концепцию о существовании особого состояния организма, характеризующегося повышенной резистентностью к действию очень многих повреждающих агентов (состояние неспецифически повышенной сопротивляемости — СНПС). Он постулировал, что этого состояния можно добиться двумя путями: постепенно приучая организм к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды или однократным (курсовым) введением некоторых лекарственных препаратов. Последние Н.В. Лазарев назвал адаптогенами. Требования к адаптогенам в уточненном виде следующие [1]: 1) адаптоген должен быть совершенно безвредным для организма, обладать большой широтой терапевтического действия, вызывать минимальные сдвиги в нормальных функциях организма или вовсе их не вызывать и проявлять свое адаптогенное действие только на соответствующем фоне; 2) действие адаптогена должно быть неспецифично в том смысле, что должна повышаться сопротивляемость к вредному влиянию весьма широкого набора факторов

физической, химической и биологической природы; 3) действие адаптогена должно быть тем более выражено, чем более глубоки неблагоприятные сдвиги в организме; 4) адаптоген должен обладать нормализующим действием независимо от направленности предшествующих сдвигов. Этим требованиям, по мнению Н.В. Лазарева, на тот момент удовлетворял ряд препаратов растительного и животного происхождения (настойка плодов лимонника, корня женьшеня, экстракт левзеи, элеутерококка), а также синтетических препаратов, в частности производных бензимидазола (дибазол и аналоги). Впоследствии стараниями учеников и последователей Н.В. Лазарева (И.И. Брехман, И.В. Дардымов, И.С. Саратиков, Н.К. Фруентов, К.В. Яременко, О.Д. Барнаулов и др.) к числу адаптогенов были отнесены экстракт родиолы розовой, настойка заманихи, аралии, стеркулии, лабазника вязолистного, экстракт из пантов марала пантокрин, из рогов сайгака сайтарин, рогов северного оленя рантарин. То есть, ядро концепции адаптогенов составили препараты растительного и животного происхождения, а производные бензимидазола, в частности дибазол (МНН: бендазол), как бы отошли на второй план и мало вспоминались вплоть до 1990-х гг., когда у этого препарата была выявлена выраженная иммуностимулирующая активность, и он стал приме-

* Адресат для корреспонденции: Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6; e-mail: pdshabanov@mail.ru.

няться в качестве иммуномодулятора для профилактики и лечения острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) и гриппа.

В определенном смысле концепция адаптогенов предшествовала появлению современных представлений о ноотропах, психоэнергизаторах и актопротекторах, теоретическое развитие которых шло в сторону конкретизации отдельных положений концепции адаптогенов.

В качестве примера можно рассмотреть представления об актопротекторах как соединениях, повышающих умственную и физическую работоспособность. Основы этой концепции были заложены в начале 1960-х гг. В.М. Виноградовым и впоследствии развиты его учениками (Ю.Г. Бобков, А.В. Смирнов, Е.Б. Шустов и др.). Итак, в соответствии с этими представлениями [2, 3] для актопротекторов характерны: 1) способность повышать резистентность организма к острому кислородному голоданию; 2) снижение потребления кислорода и температуры тела; 3) облегчение приобретения навыков и консолидации следов памяти; 4) повышение резистентности организма к воздействию высоких температур и физических нагрузок; 5) повышение умственной работоспособности; 6) проявление специфического эффекта при однократном введении препаратов; 7) низкая токсичность (более 1.5–2 г/кг). Видно, что положения 1, 2, 4 и 5 прямо вытекают из положения 2 концепции адаптогенов, положение 7 идентично положению 1 концепции адаптогенов, а положения 3 и 6 являются уточнением или расшифровкой положения 4 концепции адаптогенов. Сам создатель концепции В.М. Виноградов [3] считал, что выделение концепции актопротекторов в отдельное теоретическое представление является не совсем удачным, и что оно было сформировано под влиянием стоявших в то время задач кафедры фармакологии Военно-медицинской академии по разработке средств для нужд военной медицины.

Возникает закономерный вопрос: если есть концепция адаптогенов, пусть несколько забытая, со смещенными акцентами на препараты растительного и животного происхождения, с некоторыми положениями (действие адаптогена должно быть тем более выражено, чем более глубоки неблагоприятные сдвиги в организме; адаптоген должен обладать нормализующим действием независимо от направленности предшествующих сдвигов), требующими уточнения, нужно ли далее изобретать новые теоретические построения в этой области, или же пытаться как-то объединить или упростить их? К концепции адаптогенов часто возвращаются, усиливая, уточняя или детализируя один или несколько ее положений. Например, публикуются данные о быстродействующих адаптогенах [4], об адаптогенных эффектах ноотропов

[5] и др. Но эти изменения являются уточнением основных положений концепции адаптогенов, а не их принципиальной трансформацией. Поэтому, по-видимому, необходимо наполнять современным содержанием уже существующие концептуальные построения, тем более что они остаются основополагающей базой для целостного восприятия действия многих фармакологических препаратов, оказывающих оптимизирующее действие на нормальные и патологические изменения в организме и специально в центральной нервной системе (ЦНС). Именно к таким основополагающим концепциям в фармакологии и относятся представления об адаптогенах как веществах, специфически повышающих устойчивость организма к действию многих повреждающих факторов.

То же самое можно сказать и о концепции ноотропов, предложенной К. Джурджеа в начале 1970-х гг. [6]. В соответствии с первоначальными представлениями автора этой концепции, ноотропы должны: 1) улучшать обучение и память; 2) повышать устойчивость усвоенного поведения/воспоминаний к условиям, которые имеют тенденцию нарушать их (например, электросудорожный шок, гипоксия); 3) защищать мозг от различных физических или химических повреждений (например, барбитуратов, скополамина); 4) повышать эффективность механизмов тонического коркового/подкоркового контроля; 5) у них не должно быть обычной фармакологии других психотропных препаратов (например, седативных средств, двигательной стимуляции), они должны обладать очень небольшим количеством побочных эффектов и чрезвычайно низкой токсичностью. За исключением достаточно специфических положений 4 и 5 первые три положения концепции вполне укладываются в концепцию адаптогенов или следуют из нее, хотя положения 4 и 5, по своей сути, тоже не противоречат основным положениям этой концепции.

Становление К. Джурджеа как ученого происходило в СССР в первой половине 1950-х гг., куда он был направлен на обучение в аспирантуре в Физиологический отдел им. И.П. Павлова Института экспериментальной медицины АМН СССР в Ленинграде. Физиологический отдел им. И.П. Павлова в тот период (1936–1964) возглавлял ученик И.П. Павлова академик АМН СССР П.С. Купалов. Интересы П.С. Купалова были сосредоточены на творческом развитии учения об условных рефлексах, где он предложил выделять особые виды рефлексов – укороченные рефлексы, конкретно, рефлекс без обычного начала и рефлекс без обычного конца [7]. Рефлекс без обычного начала рассматривался как запускаемый в основном обстановочными факторами, а не определенным условным раздражителем. Рефлекс без обычного конца, с позиции П.С. Купалова, должен был заканчиваться неким замы-

кательным процессом в головном мозге, точнее в коре больших полушарий, без проявления двигательной или иной эффекторной активности. Исследования проводили главным образом на собаках в свободном поведении, в специальной комнате, оборудованной разными приспособлениями (кормушки, источники звука, света, ширмы) и получили название ситуационных рефлексов [8]. Если формирование ситуационных рефлексов на обстановочные стимулы было достаточно очевидно, поскольку они вырабатывались у всех собак, то рефлекс без обычного конца требовали специальных исследований, доказывающих, что замыкательная функция в коре головного мозга осуществляется, и она не проявляется никакой видимой эффекторной составляющей.

Именно эту работу поручили выполнить молодому аспиранту К. Джурджеа из Румынии. К. Джурджеа (1923–1995) получил медицинское образование в Бухарестском университете и был направлен в целевую аспирантуру в СССР. Здесь он проявил незаурядные качества исследователя и фактически первым в мире продемонстрировал формирование условного рефлекса при прямом раздражении двух зон (двигательной и зрительной) коры больших полушарий головного мозга. До него ни один исследователь этого не делал, все представления об образовании условных рефлексов в коре больших полушарий основывались не на прямых, а на косвенных, главным образом умозрительных, доказательствах. К. Джурджеа вживил 4 собакам электроды в двигательную и сенсорную (зрительную) кору больших полушарий головного мозга на расстоянии 4–5 см друг от друга. Подача электрического раздражения на двигательную кору вызывала у собак сгибание и поворот головы, жевательные движения и клонические движения передней лапы. В качестве условного раздражителя экспериментатор использовал раздражение зрительной коры током в 2–2.5 В. При этом у всех собак не наблюдалось никакой двигательной реакции. Сочетая условный раздражитель с безусловным (подача тока в течение 5 с изолированно на зрительную кору, затем присоединение безусловного раздражения в течение 7 с), после 19–21 сочетания вызывала двигательную реакцию на раздражение зрительной зоны коры больших полушарий, подобную той, какую наблюдали при раздражении двигательной коры. Условный рефлекс на прямое раздражение коры возникал только при временном интервале 4–6 мин между раздражениями, но тормозился в случае укорочения этого времени. Выработанный таким способом условный рефлекс мог тормозиться под влиянием внешних раздражителей и при неподкреплении, но восстанавливаться после угашения при подкреплении или спонтанно [9].

Период, в который К. Джурджеа работал в Физиологическом отделе им. И.П. Павлова, совпал с

публичной апробацией концепции адаптогенов, которую активно продвигал Н.В. Лазарев. Следует отметить, что научные собрания Общества физиологов, биохимиков и фармакологов им. И.М. Сеченова (существует в Санкт-Петербурге до настоящего времени) в тот период проводили в Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (наб. Макарова, 6), на них обязательно ходили не только маститые ученые, вузовская профессура, преподаватели и научные сотрудники, но и аспиранты, и молодые ученые, и студенты старших курсов медицинских вузов. Заседания проходили бурно, сталкивались разные мнения, дискуссии разворачивались весьма остро, поэтому молодым исследователям всегда было чему поучиться. Н.В. Лазарев отличался ярким талантом полемиста, был почти всегда убедителен в своих аргументах, говорил доходчиво, приводил ясные и впечатляющие примеры, охотно выступал по поводу большинства докладов (“краснобайствовал”, как описывали присутствующие), и не забывал про его выступлений слушатели, включая молодых ученых, не могли. На этих заседаниях не раз обсуждалась и концепция адаптогенов, оригинальность которой привлекала и формировала пул последователей.

После защиты кандидатской диссертации (1952) и возвращения в Румынию К. Джурджеа решает эмигрировать из своей страны. Он осваивает постдоковскую программу в Рочестерском университете по психологии и позже находит работу в Католическом университете Лувэна (Бельгия). Одновременно устраивается в компанию UCB (г. Лувен), где занимает должность исследователя и научного консультанта. При его непосредственном участии был синтезирован (1964) и исследован 2-оксо-1-пирролидина ацетамид, впоследствии внедренный в практическую медицину под названием “ноотропил” (МНН: пирацетам). При изучении ноотропила, К. Джурджеа столкнулся с рядом трудностей, которые умело преодолел и, как результат, сформулировал представления о ноотропах (от греч. ноос – ум, разум, интеллект; тропос – имеющий отношение к чему-либо). По К. Джурджеа [6], ноотропы должны обладать рядом свойств, которые мы рассмотрели выше. Отмечу лишь, что К. Джурджеа постоянно уточняет свою концепцию за счет расширения представлений о благоприятном влиянии ноотропов не только на обучение и память, но на “интегративную деятельность мозга”, в том числе и у пожилых [10, 11].

Сама концепция ноотропов достаточно эклектична. Изучая 2-оксо-1-пирролидина ацетамид, К. Джурджеа, прежде всего, столкнулся с тем, что соединение обладает крайне низкой токсичностью, которая, по его оценке, составляла порядка 9–10 г/кг у мышей (максимально возможный объем вещества для введения этим грызунам внутрь или внутрибрюшинно). Согласно канону

нам фармакологии, такие соединения изымаются и выбраковываются как неактивные, поскольку алгоритм исследований идет по направлению от токсичности к действующей дозе, которая выбирается обычно 1/20–1/10 от ЛД₅₀. С этих позиций, 2-оксо-1-пирролидина ацетамид не представлял фармакологического интереса. Однако в исследованиях К. Джурджеа это стало впоследствии знаковым признаком (см. п. 5 концепции). 2-Оксо-1-пирролидина ацетамид оказался малоактивным при однократном введении и действовал только в дозах не менее 200 мг/кг у грызунов. Как специалист, прошедший школу в Физиологическом отделе им. И.П. Павлова в Ленинграде, К. Джурджеа сосредоточил изучение 2-оксо-1-пирролидина ацетамида в качестве средства, положительно влияющего на высшую нервную деятельность, в частности на процессы обучения и памяти, а также и устойчивость их к нарушениям, вызванным различными повреждающими агентами внешней среды (в экспериментальных условиях это, обычно, электросудорожный шок, введение М-холиноблокатора скополамина, помещение в гипоксическую среду и т.д.). Данные были получены, они были обнадеживающие и впоследствии стали заглавными требованиями концепции ноотропов (см. пп. 1–3 концепции). Наконец, положение 4 концепции “повышать эффективность механизмов тонического коркового/подкоркового контроля” также прошло определенную эволюцию. Первоначально оно рассматривалось как “сглаживание межполушарных взаимоотношений” под влиянием 2-оксо-1-пирролидина ацетамида и других ноотропов, потом трансформировалось “в улучшение межполушарных взаимоотношений” и, наконец, звучало так, как было опубликовано в 1972 г. [6] – “повышение эффективности механизмов тонического коркового/подкоркового контроля”. Как можно видеть, это более общее требование, в которое можно вписать разные экспериментальные данные, полученные электрофизиологическими методами по изучению как корковых, так и подкорковых взаимодействий. Кроме того, важным моментом, который необходимо отметить в исследованиях К. Джурджеа, – это курсовой принцип применения подобных средств, при котором их эффективность значимо возрастает.

Даже невооруженным взглядом видно, что концепция ноотропов К. Джурджеа в главном перекликается с концепцией адаптогенов Н.В. Лазарева, за исключением пп. 4 и 5 концепции ноотропов, сформулированных исключительно на собственных представлениях и наработках К. Джурджеа, полученных им при выполнении диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук в Ленинграде (1952). И это не упрек в адрес К. Джурджеа, крупного и оригинального ученого, который творчески использовал наработанный до него опыт (а это обычный и традиционный

путь формирования научных знаний). Нужно отметить, что появление концепции ноотропов оказалось преждевременным, поскольку было абсолютно не ясно, куда (в какую группу психотропных средств) ноотропы следует отнести, тем более что они фактически были представлены только одним препаратом – пирацетамом (ноотропилом). По эффектам они характеризовались психоактивирующим типом действия, и первоначально они были отнесены к психоаналептикам. Этому способствовало и то обстоятельство, что Бельгийская фармацевтическая фирма UCB в качестве лекарственной формы выпустила флаконы 20%-ного раствора ноотропила по 50 мл для применения в основном в посленаркозный период с целью скорейшего восстановления нарушенных функций ЦНС. Только стараниями таких ученых, как крупнейший отечественный фармаколог-систематик М.Д. Машковский, пирацетам был выделен в отдельную группу психоактивирующих средств, официально названных “ноотропами”. После этого группа ноотропов стала активно пополняться, не всегда обоснованно. Во-первых, к ноотропам стали относить многие фармакологические агенты, проявляющие свойства устранять нарушения памяти и поведения, вызванные повреждающими факторами внешней среды (шоком, интоксикацией, гипоксией и т.д.), без учета, оказывают ли они психоактивирующее или депримирующее действие на нормальные когнитивные процессы (память, внимание, мышление, речь, праксис). Это привело к неправильной трактовке ноотропов и необоснованному расширению данного класса препаратов за счет препаратов с транквилизирующим или слабым седативным действием (в настоящее время такие вещества рассматриваются как ноотропоподобные). Во-вторых, концепция ноотропов не была активно поддержана в европейских странах и Северной Америке. В США, например, данные препараты либо не разрешены FDA (Food and Drug Administration – официальный орган государственного контроля за внедрением лекарственных средств и пищевых продуктов) к практическому применению, либо используются как биологически активные добавки (БАД) к пище и отнесены к психостимуляторам. С другой стороны, в СССР и странах Восточной Европы (Болгария, Польша), напротив, пирацетам стали активно продвигать и применять, поскольку идеология его применения была близка исследователям и врачам. Здесь уместно упомянуть ряд отечественных ученых, усилиями которых концепция ноотропов активно продвигалась в нашей стране, особенно в 1980–90 гг. Это М.Д. Машковский, А.В. Вальдман, Т.А. Воронина (Москва), Ю.С. Бородин, В.М. Виноградов (Ленинград), Г.В. Ковалев (Волгоград), Э.Б. Арушанян (Ставрополь) и их сотрудники [12–16].

В настоящее время ноотропами называют группу психофармакологических средств, улучшающих высшие функции мозга (память, внимание, мышление, речь, праксис) и повышающих устойчивость нервной системы к воздействию агрессивных факторов внешней среды (шок, интоксикация, травма, инфекция). Состав группы ноотропов окончательно не устоялся, сюда относят производные оксопирролидина, или рацетамы (пирацетам, этирацетам, оксирацетам, анирацетам, прамирацетам), аминокэтанола (деанол, ацефен, или центрофенаксин, мефексамид), ГАМК (аминалон, пантагам), пептидные средства (семакс, ноопепт, лизин-вазопрессин, кортексин, церебролизин), энцефабол (пиридитол), некоторые метаболиты. Все они достаточно хорошо изучены, как в плане механизма действия, так и фармакологических эффектов [17].

Механизм действия ноотропов неодинаков из-за неоднородности химического состава группы, хотя имеется ряд общих черт.

Во-первых, большинство препаратов этой группы не оказывает прямого синапсотропного действия (за исключением производных ГАМК). В то же время они улучшают синаптическую эффективность для многих нейромедиаторов (ацетилхолина, дофамина, норадреналина, серотонина, ГАМК), влияя на разные звенья передачи нервного импульса. В основе действия лежит облегчение синаптической передачи (на 5–10%) в многочисленных синапсах центральной нервной системы (число нервных клеток в головном мозге составляет 13–14 млрд клеток, на каждом нейроне с средним замыкается около 5 тыс. синапсов).

Во-вторых, ноотропы улучшают энергетический и пластический обмен в разных тканях, включая ЦНС и периферические органы. Стимулируют утилизацию глюкозы мозгом, синтез макроэргов, РНК, белков, фосфолипидов мембран.

В-третьих, они улучшают кровообращение и микроциркуляцию в ЦНС и периферических органах (миокард, печень, почки, легкие).

Ноотропы обоснованно называют активаторами и восстановителями высших функций мозга. Для них присущи следующие фармакодинамические эффекты.

1) Повышение высших функций мозга — памяти, внимания, мышления, речи, праксиса (собственно ноотропный эффект). Препараты улучшают концентрацию внимания, сокращают время и число ошибок при решении задач, улучшают обучаемость, оперативную и долговременную память, способность к воспроизведению информации. Ноотропы лучше действуют при астениях, хроническом утомлении, у детей с дефектами обучения и развития.

2) Восстановление сниженных и нарушенных функций у здоровых людей после тяжелых стрес-

совых ситуаций или истощающих нагрузок или у лиц с невротическими состояниями, нарушенной психической и социальной адаптацией (восстановительный эффект).

3) Ускорение функциональной реабилитации после черепно-мозговых травм, инсультов, нейроинфекций, интоксикаций, в том числе нейротропными препаратами, алкоголем, наркотическими анальгетиками, свинцом, другими ядами и солями тяжелых металлов (реабилитационный эффект). Основой реабилитации является активация пластического и энергетического обмена в нервной ткани, повышение и восстановление нарушенных компенсаторных механизмов мозга.

4) Повышение общего тонуса и функциональной активности у пожилых лиц, что важно для профилактики нарушений эмоциональной сферы, мышления, памяти (общетонизирующий эффект).

5) Отсутствие заметного влияния на систему кровообращения (сердечно-сосудистую), на функции паренхиматозных органов (печени, почек), легких, выделительную систему.

Показания к применению ноотропов исходят из спектра фармакологической активности. Это:

а) у здоровых лиц после истощающих психоэмоциональных и физических нагрузок, при астении, синдроме хронической усталости;

б) в качестве восстановительного и реабилитационного лечения при черепно-мозговых травмах, инсультах, нейроинфекциях, интоксикациях нейротропными препаратами, ядами, в абстинентном периоде у больных наркоманией и алкоголизмом;

в) в геронтологии и геронтопсихиатрии для профилактики и лечения нарушений мышления, памяти, аффективной сферы.

г) в педиатрии для лечения умственной отсталости легкой и средней степени, других нарушений развития.

Выбор препаратов определяется состоянием пациента, стадией и течением заболевания [17, 18]. Приведем некоторые варианты назначения ноотропов при неврологических и психиатрических заболеваниях (табл. 1).

Как правило, при применении ноотропов нет серьезных противопоказаний и осложнений. Может быть раздражительность, нарушения сна, диспепсические расстройства (тошнота, боли в эпигастриальной области, поносы) у лиц, длительно применяющих пирацетам.

Интересно отметить, что со временем пересматриваются и принципы назначения ноотропных средств в сторону расширения области применения и высокодозной терапии. Так, фирма UCB (Бельгия), в течение более 20 лет отсутствовавшая на фармацевтическом рынке России (действовали через посредника), в 2018 г. вышла с пересмотренными показаниями к применению

Таблица 1. Выбор ноотропов при некоторых неврологических и психических заболеваниях [18]

Синдром	Препарат	Эффект
Астенический синдром: повышенная раздражительность, приступы слабости, нарушение сна, снижение работоспособности (хроническая усталость)	Фенибут, аминалон, энцефабол, ноопепт, кортексин	Ноотропный, легкий противотревожный
Истощающие физические и психоэмоциональные нагрузки	Пантогам, пирацетам, деанол, кортексин	Активирующий
Отставание в развитии у детей	Пирацетам, оксирацетам, ацефен, церебролизин, кортексин	Активирующий
Последствие черепно-мозговой травмы (снижение памяти, концентрации внимания, работоспособности)	Пирацетам, этирацетам, ноопепт, аминалон, лизин-вазопрессин	Легкий стимулирующий
Абстинентный синдром (при зависимости от алкоголя, наркотических средств) в период реконвалесценции	Фенибут, пантогам, энцефабол, ацефен, церебролизин, кортексин	Ноотропный, легкий противотревожный
Нарушения памяти, мышления и эмоциональной сферы у пожилых	Пирацетам, деанол, аминалон, церебролизин, кортексин	Легкий стимулирующий
Длительное применение противосудорожных, антиспастических, антигистаминных и других аналогичных препаратов	Аминалон, энцефабол, пантогам, деанол, ноопепт, ацефен, кортексин	Умеренно активирующий

пирацетама (ноотропила), рекомендовав его назначение в высоких дозах (2.4–7.2 г/сутки) при синдроме Меньера, вестибулярных нарушениях и тяжелых головных болях, а также субарахноидальных кровоизлияниях. За каждым показанием к применению, как правило, лежат масштабные клинические исследования, доказывающие или опровергающие то или иное положение. Однако в международной Кохрейновской базе данных на ноябрь 2022 г. представлены обзоры по доказанной клинической эффективности пирацетама только по 5 показаниям: 1) при ишемическом инсульте; 2) фетальном дистрессе в родах (антигипоксическое действие); 3) при деменции и когнитивных нарушениях; 4) серповидно-клеточной анемии; 5) афазических нарушениях после инсульта. В то же время следует подчеркнуть, что отсутствие размещения результатов клинических испытаний в международных базах данных не является противопоказанием для использования препарата по направлениям, заявленным в его инструкции по применению.

Таким образом, мы рассмотрели формирование концепции ноотропов с позиции исторической преемственности идей и отдельных постулатов. В каждом проявлении теоретических построений, как правило, имеется свой идейный предшественник. Современная концепция ноотропов, безусловно, является одной из оригинальных и востребованных теорий для практического применения соответствующей группы лекарственных средств.

Однако у каждой новой концепции часто имеется свой идейный или практический предшественник. Таким предшественником для концепции ноотропов можно с уверенностью рассматривать концепцию адаптогенов, сформулированную выдающимся отечественным фармакологом и токсикологом Н.В. Лазаревым (1895–1974). Постулированные им положения [19] легли в основу многих теоретических построений второй половины XX века, существенно обогативших современную отечественную и зарубежную науку.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брехман И.И. // Элеутерококк. Л.: Наука, 1968. 168 с.
2. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф., Лосев С.С., Смирнов А.В. // Фармакологическая коррекция утомления. Л.: Медицина, 1984. 208 с.
3. Виноградов В.М., Криворучко Б.И. // Психофармакол. и биол. наркол. 2001. Т. 1. № 1. С. 27–37.
4. Гречко А.Т. // Междунар. мед. обзоры. 1994. Т. 2. № 5. С. 330–333.

5. Глущенко В.В., Шабанов П.Д. // Минимальная дисфункция мозга. М.: Бином, 2013. 320 с.
6. Giurgea C. // *Actuel. Pharmacol.* (Paris). 1972. V. 25. P. 115–156.
7. Купалов П.С. // Механизмы замыкания временной связи в норме и патологии. М.: Наука, 1978. 262 с.
8. Giurgea C.E. // *Pavlov J. Biol. Sci.* 1989. V. 24. № 3. P. 81–89.
9. Джурджеа К. Образование условного рефлекса при прямом раздражении коры больших полушарий: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Л.: 1-й ЛМИ им. акад. И.П. Павлова, 1952. 12 с.
10. Giurgea C. // *Cond. Reflex.* 1973. V. 8. № 2. P. 108–115.
11. Giurgea C.E., Greindl M.G., Preat S. // *Acta Psychiatr. Belg.* 1983. V. 83. № 4. P. 349–358.
12. Шабанов П.Д., Бородкин Ю.С. // Нарушения памяти и их коррекция. Л.: Наука, 1989. 127 с.
13. Ковалев Г.В. // Ноотропные средства. Волгоград: Средневолжское изд-во, 1990. 360 с.
14. Машковский М.Д. // Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2002. Т. 1. С. 133–136.
15. Воронина Т.А. // *Психофармакол. и биол. наркол.* 2002. Т. 2. № 3–4. С. 375–378.
16. Арушанян Э.Б. // Лекарства, улучшающие познавательную деятельность мозга (ноотропные средства). Ставрополь: Изд-во СтГМА, 2004. 400 с.
17. Шабанов П.Д. // *Психофармакология.* СПб.: Н-Л, 2008. 368 с.
18. Шабанов П.Д. // *Наркология.* Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Геотар-Медиа, 2012. 832 с.
19. Шабанов П.Д. // Концепция адаптогенов: истоки, современное состояние, перспективы. Акт. Речь на 2-х Лазаревских чтениях. СПб.: ВМедА, 2002. 72 с.

The Origins and Background of the Creation of the Nootropics Concept

P. D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

The concept of nootropics was introduced into pharmacology in the early 1970s by Corneliu Giurgea, a Belgian pharmacologist of Romanian origin, based on the study of 2-oxo-1-pyrrolidine derivatives, which later became known as racetams. The paper substantiates the position that the emergence of modern ideas about nootropics and similar compounds (psychoenergizers, antihypoxants, actoprotectors) in a certain sense was preceded by the concept of adaptogens by N.V. Lazarev (1953–1958), whose theoretical development went towards concretization of certain provisions of this concept. The formation of the problem of nootropics, their place in modern pharmacology, the origins and prospects for the development of the concept, the search for new pharmacological agents with nootropic properties are considered. Nootropic activity is analyzed from the standpoint of the mechanisms of action of racetams, neuropeptides, GABA derivatives, benzimidazoles.

Keywords: nootropics, adaptogens, racetams, GABA derivatives, neuropeptides, benzimidazole derivatives

УДК 544.165

СОЗДАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ НОВОГО КЛАССА ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МОДУЛЯТОРОВ АМРА-РЕЦЕПТОРОВ – ПРОИЗВОДНЫХ 3,7-ДИАЗАБИЦИКЛО[3.3.1]НОНАНОВ

© 2023 г. В. В. Григорьев^{1, *}, М. И. Лавров², В. А. Палюлин², Т. Л. Гарибова³,
К. В. Анохин⁴, С. О. Бачурин¹

¹ Институт физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН,
Черноголовка, Московская обл., Россия

² Химический факультет Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

“Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова” РАН, Москва, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Научно-исследовательский институт
нормальной физиологии имени П.К. Анохина РАН, Москва, Россия

Поступила в редакцию 29.11.2022 г.

После доработки 30.11.2022 г.

Принята к публикации 16.12.2022 г.

В обзоре представлены результаты последовательных научных исследований нового класса положительных аллостерических модуляторов АМРА-рецепторов класса производных 3,7-дизабицикло[3.3.1]нонанов, начиная от теоретического предсказания структур соединений, их синтеза, изучения их влияния на токи АМРА-рецепторов как доказательства отнесения их к классу ПАМ, изучения их активности и эффективности в поведенческих экспериментах, моделирующих как различные острые нарушения памяти и когнитивных функций, так и в хронических экспериментах, моделирующих патологию болезни Альцгеймера, изучение их молекулярного механизма взаимодействия с АМРА-рецептором методами компьютерного 3D моделирования, радиолигандного исследования меченого соединения **5** с фракциями синаптических мембран гиппокампа мозга с целью определения “посадочных мест” этого ПАМ в мозге крыс. Все вышеописанное характеризует новые соединения этого класса как наиболее активные среди известных ПАМ в мире, обладающие выраженным когнитивно-стимулирующим действием как у нормальных животных, так и в различных моделях патологического расстройства памяти, что указывает на их большой терапевтический потенциал.

Ключевые слова: АМРА-рецепторы, положительные аллостерические модуляторы, когнитивно-стимулирующее действие, радиолигандное связывание

DOI: 10.31857/S1027813323020073, **EDN:** UCLORH

ВВЕДЕНИЕ

Глутаматергическая система играет чрезвычайно важную роль в функционировании центральной нервной системы млекопитающих. Глутаматные рецепторы по своей чувствительности к селективным агонистам делятся на три типа: рецепторы *N*-метил-D-аспарагиновой кислоты (NMDA-рецепторы), α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (АМРА-рецепторы) и каиновой кислоты (каинатные (КА) рецепторы) [1]. АМРА-рецепторы принимают непосредственное участие в процессах формирования когнитив-

ных функций и памяти [2, 3]. Среди лигандов различных регуляторных сайтов АМРА-рецепторов особый интерес вызывают положительные аллостерические модуляторы (ПАМ) АМРА-рецепторов. Это обусловлено их уникальными свойствами: они мягко настраивают глутаматергическую систему, поскольку не вызывают никаких эффектов в отсутствие природного лиганда в синапсе в отличие от прямых агонистов АМРА-рецептора, передозировка которых может вызвать гиперстимуляцию глутаматергической системы ЦНС и нейротоксичность [4–7]. Напротив, положительные аллостерические модуляторы АМРА-рецепторов имеют относительно мало побочных эффектов в терапевтически эффективных дозах.

* Адресат для корреспонденции: Северный пр-д, 1, 142432
Черноголовка, Московская обл., e-mail: grigor@ipac.ac.ru.

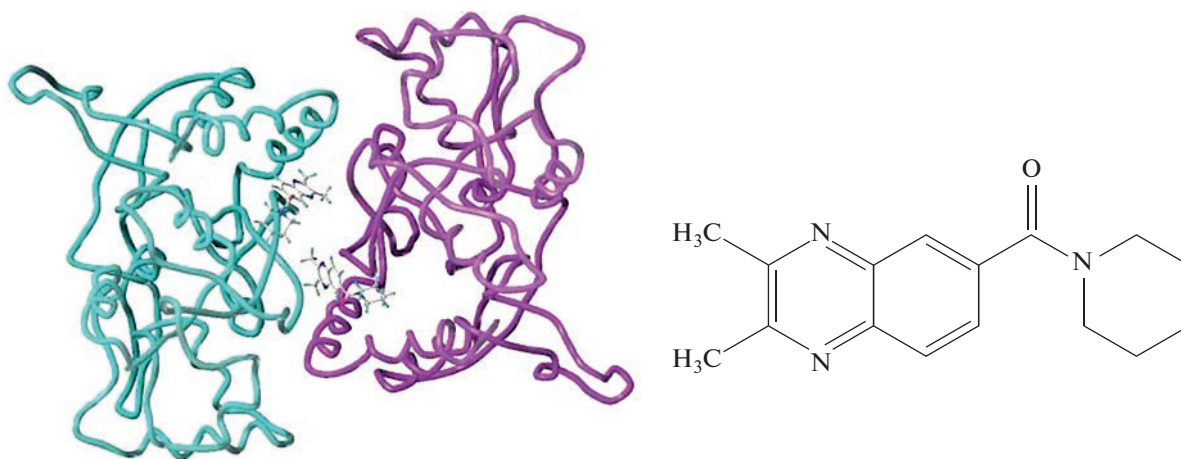


Рис. 1. Молекулярный докинг производного CX-516.

ПАМ АМРА-рецепторов могут быть полезны при лечении различных неврологических расстройств, таких как депрессия, шизофрения, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, синдром дефицита внимания/гиперактивности СДВГ) и расстройства настроения, наркотической зависимости [8–12]. Терапевтический эффект ПАМ частично связан с их способностью значительно повышать экспрессию нейротрофических факторов – фактора роста нервов (NGF) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF) [13]. Хроническое пероральное применение ПАМ вызывает у крыс восстановление дендритов, сопровождающееся улучшением как синаптической пластичности, так и кодирования долговременной памяти о новых событиях [14].

Учитывая крайне ограниченный набор лекарств для лечения нейродегенеративных заболеваний, в частности болезни Альцгеймера и других форм деменций, поиск и создание новых ПАМ с

высокой активностью и специфичностью является крайне актуальной задачей.

ОБОСНОВАНИЕ СТРУКТУР

Первые исследования по докингу положительных модуляторов АМРА-рецептора были выполнены после появления рентгеноструктурных данных о строении димера глутаматсвязывающего домена АМРА-рецептора, и была показана возможность одновременного связывания двух небольших молекул (в частности, известных лигандов CX-516 и циклотиазида – СТЗ) на расстоянии друг от друга в симметричном кармане, расположенном на интерфейсе между двумя субъединицами (рис. 1) [15]. В дальнейшем рентгеноструктурные данные для комплексов различных ПАМ с димером глутаматсвязывающего домена АМРА-рецептора подтвердили как такой способ связывания, так и возможность связывания молекул большего размера в центральной части сайта [16, 17].

Был разработан принцип конструирования новых активных лигандов, заключающийся в соединении спейсером двух небольших молекул, связывающихся с каждым из двух модуляторных сайтов димера глутаматсвязывающего домена АМРА-рецептора [18, 19]. Возможный способ связывания конструируемых бивалентных лигандов с модуляторными сайтами АМРА-рецептора показан на рис. 2 [18].

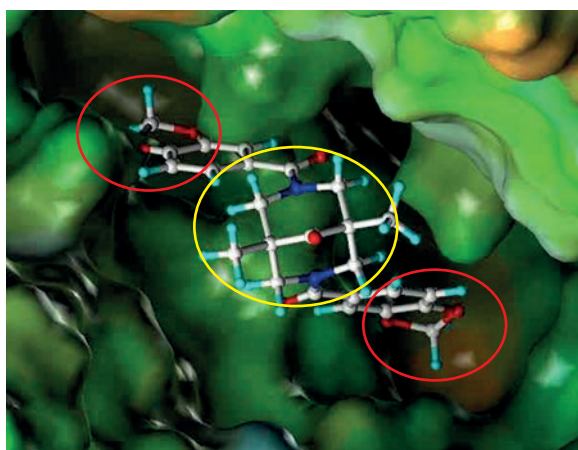


Рис. 2. Возможный способ связывания бивалентных лигандов с модуляторными сайтами АМРА-рецептора.

Конструирование и оптимизация потенциальных лигандов осуществлялись с помощью пакета программ SYBYLX2.1 [18]. Молекулярный докинг исследуемых соединений проводился в предполагаемый сайт связывания, расположенный между двумя глобулами двух субъединиц глутаматсвязывающих доменов АМРА-рецептора. Для поиска наилучшей конформации в полости связывания

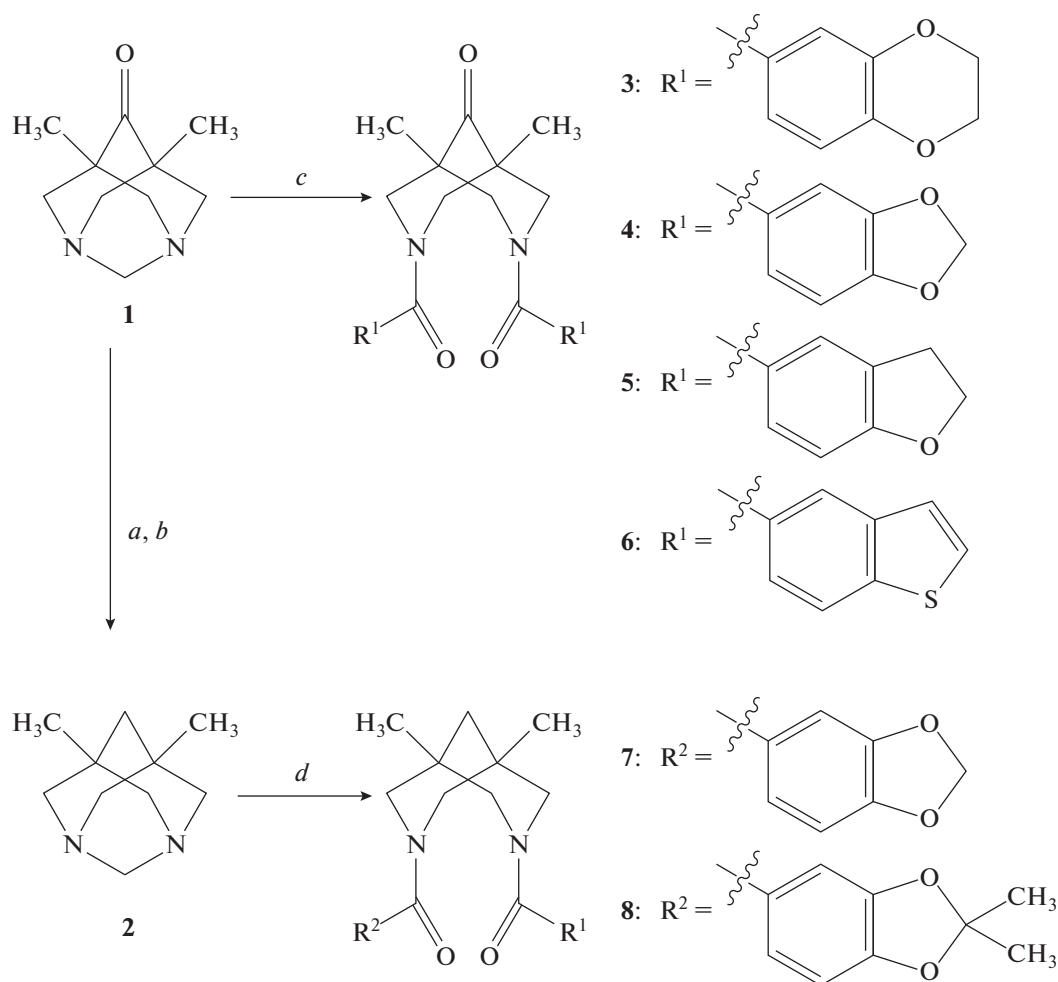


Рис. 3. Схема синтеза новых производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана [18, 19, 22]. (a, b) Восстановление по Кижнеру–Вольфу и *tert*-бутоксидом калия, (c, d) ацилирование хлорангидридами соответствующих кислот.

мишени применялось варьирование торсионных углов лигандов методом синхронного поиска.

Процедура докинга осуществлялась с помощью программы AutoDock 4.2 [18]. Для оптимизации структуры использовался метод моделирования *de novo*, который заключается в виртуальном конструировании молекулы и оптимизации ее положения в активном центре биомишени с учетом стерических, электростатических взаимодействий, водородных связей и других факторов, обуславливающих взаимодействие лиганда с белком. В результате был подобран спейсер — каркасная структура на основе 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана, обеспечившая необходимую для оптимального связывания ориентацию двух ацильных заместителей, соответствующие которым исходные “монолиганды” [15, 20] обладали весьма умеренной активностью.

Таким образом была сконструирована молекула **4** и серия ее аналогов **3**, **6–8** [18, 19], которые по данным моделирования хорошо соответствовали по форме карману связывания ПАМ и по оцен-

кам связывания с биомишенью могли проявлять значительно более высокую активность, чем известные соединения с похожим физиологическим действием.

СИНТЕЗ

Синтез сконструированных соединений представлен на рис. 3. В качестве исходных соединений были использованы 5,7-диметил-1,3-диазаадамantan-6-он **1** [21] или его восстановленный аналог 5,7-диметил-1,3-диазаадамantan **2** (восстановление проводили по Кижнеру–Вольфу, а также трет-бутоксидом калия в толуоле). Конечные соединения **3–8** были получены ацилированием диазаадамantanов **1** и **2** хлорангидридами соответствующих кислот (рис. 3) [18, 19, 22].

Таким образом, была синтезирована серия новых соединений, которые в дальнейшем были исследованы в электрофизиологических и поведенческих экспериментах [22].

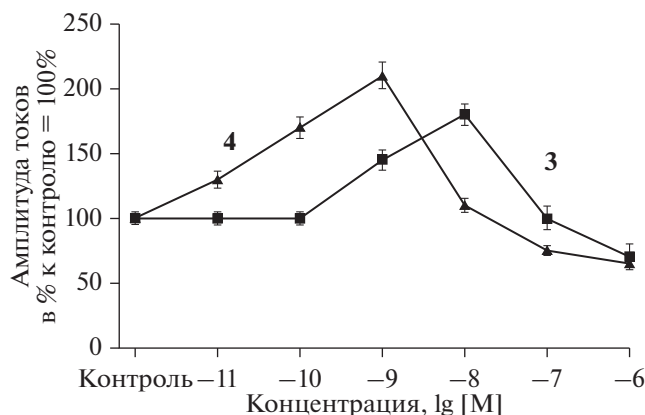


Рис. 4. Действие различных концентраций соединений **3** и **4** на токи AMPA-рецепторов в нейронах Пуркинье мозжечка крыс, вызванных аппликацией каиновой кислоты [22].

Дальнейшая оптимизация структуры соединения **4** с учетом биодоступности веществ позволила существенно улучшить его фармакокинетические характеристики, что привело к новому соединению-лидеру — соединению **5** (рис. 3). Так, период полувыведения соединений **4** и **5** в дозах 1 мг/кг п/о составляет 38 ± 2 и 164 ± 3 мин соответственно [23].

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ

Электрофизиологические эксперименты по оценке действия веществ на AMPA-рецепторы были проведены методом patch-clamp [24, 25]. Эффекты новых соединений — производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонана на ответы AMPA-рецепторов исследовали на изолированных нейронах Пуркинье от 12–15-дневных крысят с использованием частичного агониста AMPA-рецепторов — каиновой кислоты (КА), которая индуцирует токи, вызывая при этом относительно низкую десенситизацию рецепторов [24]. Было показано, что соединения исследуемого ряда изменяют амплитуду токов AMPA-рецепторов в зависимости от концентрации. Наиболее активными оказались соединения **4** и **3**. Действие соединения **4** началось с концентрации 0,01 нМ, при которой оно увеличивало амплитуду токов AMPA-рецепторов в среднем на 30% (рис. 4). Дальнейшее увеличение концентрации вещества приводило к усилению потенцирующего эффекта, который достигал максимума при концентрации 1 нМ и составлял 110%. Однако более высокие концентрации (более 10 нМ) не вызывали дополнительного увеличения токов. Наоборот, концентрация **4** выше 10 нМ вызывала снижение активационного эффекта на токи AMPA-рецепторов, а при концентрации 100 нМ соединения **4** активирующий эффект полностью исчезал. Более высокие концентрации (до 1 мкМ)

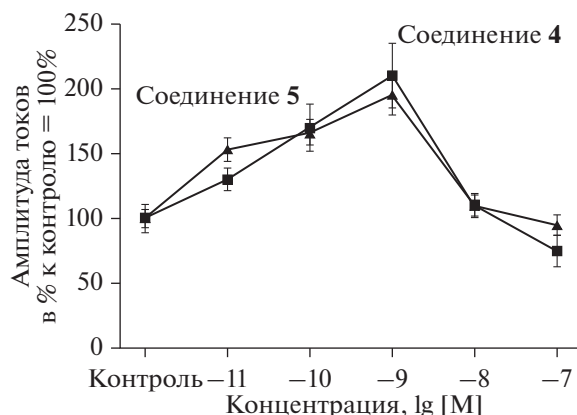


Рис. 5. Потенциация токов AMPA-рецепторов в нейронах Пуркинье мозжечка крыс при действии соединений **4** и **5**, исследованных электрофизиологическим методом patch-clamp [23].

уменьшали токи по сравнению с контрольными значениями. Действие соединения **3** было очень похоже на действие соединения **4**, но его активность была в среднем в 10 раз ниже, чем у соединения **4** (рис. 4). Максимальное потенцирование наблюдалось при концентрации 10 нМ и составляло 80%. Дальнейшее увеличение концентрации приводило к уменьшению потенцирующего эффекта, а затем и к блокаде токов [22].

Потенцирующий эффект соединений **7** и **8** проявлялся только в узком диапазоне концентраций по сравнению с соединением **4** и был менее выражен: максимальная величина потенцирующего эффекта для соединения **7** составила около 35%, а для соединения **8** — 70%. Соединение **6** не проявляло активности во всем диапазоне исследованных концентраций [22].

Полученные данные электрофизиологических экспериментов показали, что соединения **3**, **4**, **7** и **8** являются положительными модуляторами AMPA-рецепторов, обладающими колоколообразным потенцирующим действием [22].

Электрофизиологические эксперименты по оценке действия вещества **5** на AMPA-рецепторы также были проведены методом patch-clamp на свежееизолированных нейронах Пуркинье [23]. Аппликация каиновой кислоты (КК) вызывала в нейронах Пуркинье трансмембранные входящие токи. Добавление в перфузируемый раствор соединения **5** приводило к зависимому от концентрации **5** увеличению амплитуды токов (рис. 5). Этот эффект был зарегистрирован в диапазоне очень низких концентраций соединения **5**: 10^{-11} – 10^{-8} М. При использовании больших концентраций **5** значения амплитуды токов возвращались к контрольному уровню, как это было и в случае соединения **4** (рис. 5) [23].

ПОВЕДЕНИЕ

Для оценки антиамнестических свойств соединений **3**, **4** и **5** как наиболее активных позитивных модуляторов АМРА-рецепторов использовали методику амнезии условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у крыс, вызванной максимальным электрошоком (МЭШ) [22, 26]. Выработку экспериментальной амнезии УРПИ с применением МЭШ проводили на стандартной установке пассивного избегания (Passive Avoidance) фирмы Lafayette Instrument Co (США). МЭШ применяли непосредственно после обучения через кортикальные электроды силой тока 43 мА, частота тока 50 Гц, продолжительность 0.3 с. Тест на воспроизведение осуществляли через 24 ч после обучения. Животное помещали на освещенную платформу установки хвостом к входу в темную камеру и регистрировали латентный период первого захода в темную камеру. Максимальное время регистрации — 3 мин. Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 30 мин до обучения [26].

Для дополнительной оценки антиамнестических свойств соединений **3** и **4** использовали широко применяемую для этих целей методику амнезии УРПИ у крыс, вызванной однократным введением скополамина. Выработку экспериментальной амнезии УРПИ с применением скополамина проводили на стандартной установке пассивного избегания (Passive Avoidance) фирмы Lafayette Instrument Co (США). Животное помещали на освещенную платформу установки хвостом к входу в темную камеру и регистрировали латентный период первого захода в темную камеру. Максимальное время регистрации 3 мин. Для получения экспериментальной амнезии крысам за 15 мин до обучения УРПИ вводили внутривентриально блокатор М-холинэргических рецепторов — скополамин в дозе 1.5 мг/кг, затем проводили процедуру обучения УРПИ и через 24 ч воспроизводили [26].

Показано, что в контрольной группе крыс с МЭШ при воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения всего 10% животных помнили об ударе током и не заходили в темный отсек камеры, тогда как в группе интактных (без МЭШ) животных этот показатель составлял 100% (табл. 1). В контрольной группе крыс, получавших скополамин, условный рефлекс через 24 ч воспроизводили только 10% крыс (табл. 2). Это свидетельствует о развитии амнезии у этих животных. При изучении антиамнестических свойств соединения **4** установлено, что соединение в дозе 0.01 мг/кг, при введении животным до обучения УРПИ, статистически достоверно увеличивало как латентное время рефлекса ($P \leq 0.05$), так и количество крыс, не зашедших в темную камеру установки ($P \leq 0.05$) и у животных с МЭШ и у животных, получивших скополамин (табл. 1 и 2). Лекарственный препарат мемантин, используемый для лечения болезни

Альцгеймера, в этих экспериментах в дозе 1 мг/кг улучшал (но не приводил к достижению критерия достоверности) воспроизведение рефлекса по количеству животных, не зашедших в темный отсек камеры, и не увеличивал латентное время рефлекса (табл. 1).

Таким образом, соединение **4** обладает выраженным антиамнестическим действием на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ. Наибольший антиамнестический эффект проявляется в дозе 0.01 мг/кг. С увеличением дозы эффект уменьшается и теряется достоверность различий от контроля. Препарат сравнения — мемантин в многократно большей дозе 1 мг/кг вызывает гораздо меньший эффект, не достигающий уровня достоверных отличий от контроля.

Изучение антиамнестической активности соединения **4** на модели амнезии УРПИ, вызванной однократным внутривентриальным введением скополамина в дозе 1.5 мг/кг показало, что соединение **4** в дозе 0.01 мг/кг обладает выраженным антиамнестическим эффектом, который характеризуется статистически достоверным увеличением латентного времени рефлекса и количества животных, не зашедших в темную камеру (60%) при воспроизведении рефлекса через 24 ч после обучения (табл. 2). В дозах 0.05 и 0.1 мг/кг вещество предупреждало амнезию у 50% животных, но эти результаты были статистически недостоверны. Антиамнестическое действие препарата сравнения мемантина выявлялось в условиях этой модели в дозе 1 мг/кг (табл. 2).

Таким образом, соединение **4** обладает отчетливым антиамнестическим эффектом, на модели амнезии УРПИ, вызванной холинолитиком скополамином и превосходит по эффективности мемантин [22].

В отдельной серии экспериментов были исследованы антиамнестические свойства соединения **5**, используя метод амнезии условной реакции пассивного избегания (УРПИ) у крыс, вызванной максимальным электрошоком (МЭШ) (табл. 3). Так же, как и соединение **4**, соединение **5** обладает выраженным антиамнестическим действием на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ. Наибольший антиамнестический эффект проявляется в дозе 0.01 мг/кг. С увеличением дозы эффект уменьшается и теряется достоверность различий от контроля. Препарат сравнения — мемантин в многократно большей дозе 2 мг/кг вызывает гораздо меньший эффект, не достигающий уровня достоверных отличий от контроля [23].

Полученные результаты характеризуют соединения **4** и **5** как перспективные кандидаты для клинических исследований в качестве средств для лечения и профилактики нейродегенеративных и психоневрологических заболеваний, связанных с

Таблица 1. Антиамнестический эффект веществ на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ [22]

Группа животных	Доза, мг/кг внутрибрюшинно	Обучение	Воспроизведение УРПИ через 24 ч после обучения		
		латентное время рефлекса, с	латентное время рефлекса, с	количество животных, не зашедших в темную камеру	количество животных, не зашедших в темную камеру, %
Интактные	Физ. р-р	18.5 ± 3.7	169.0 ± 31.0	9/10	90
МЭШ	Физ. р-р	12.7 ± 0.9	84.4 ± 24.7 ^a	1/10 ^c	10
Соединение 3	0.01	19.3 ± 2.6	91.9 ± 30.1	4/10	40
Соединение 3	0.1	16.4 ± 1.7	154.3 ± 48.2 ^b	7/10 ^d	70
Соединение 3	0.5	17.7 ± 2.1	160.2 ± 40.2 ^b	6/10 ^d	60
Интактные	Физ. р-р	22.5 ± 4.9	177.5 ± 2.5	9/10	90
МЭШ	Физ. р-р	14.1 ± 1.8	45.1 ± 5.2 ^a	1/10 ^c	10
Соединение 4	0.01	18.7 ± 5.6	160.3 ± 15.2 ^b	7/10 ^d	70
Соединение 4	0.05	15.2 ± 4.5	149.6 ± 14.0 ^b	5/10	50
Соединение 4	0.1	17.2 ± 3.3	121.3 ± 21.2	5/10	50
Мемантин	1.0	33.3 ± 17.7	135.6 ± 21.8 ^b	6/10 ^d	60

^a Достоверность отличия от контроля, ^b достоверность отличия от контроля с МЭШ, при $p \leq 0.05$ (U критерий Мана–Уитни); ^c достоверность отличия от контроля, ^d достоверность отличия от контроля с МЭШ, при $p \leq 0.05$ (критерий Фишера).

Таблица 2. Антиамнестический эффект веществ на модели амнезии УРПИ, вызванной скополамином [22]

Группа животных	Доза, мг/кг внутрибрюшинно	Обучение	Воспроизведение УРПИ через 24 ч после обучения		
		латентное время рефлекса, с	латентное время рефлекса, с	количество животных, не зашедших в темную камеру	количество животных, не зашедших в темную камеру, %
Интактные	Физ. р-р	18.1 ± 6.0	157.1 ± 24.9	8/10	80
Контроль со скополамином	1.5	29.6 ± 8.7	91.6 ± 20.8 ^a	1/10 ^c	10
Соединение 3	0.01	19.3 ± 7.0	100.1 ± 32.6	5/10	50
Соединение 3	0.1	17.3 ± 9.0	177.0 ± 33.9 ^b	8/10 ^d	80
Соединение 3	0.5	16.1 ± 7.8	150.7 ± 43.8 ^b	7/10 ^d	70
Интактные	Физ. р-р	8.6 ± 1.4	165.7 ± 9.5	9/10	90
Контроль со скополамином	1.5	14.1 ± 1.8	45.1 ± 5.2 ^a	1/10 ^c	10
Соединение 4	0.01	10.0 ± 1.9	115.6 ± 28.9 ^b	7/10 ^d	70
Соединение 4	0.05	14.5 ± 2.3	99.0 ± 11.1 ^b	6/10	60
Соединение 4	0.1	15.9 ± 3.3	97.1 ± 30.1	5/10	50
Мемантин	1.0	16.6 ± 3.2	121.6 ± 30.1 ^b	7/10	70

^a Достоверность отличия от контроля, ^b достоверность отличия от контроля со скополамином (1.5 мг/кг) при $p \leq 0.05$ (U критерий Мана–Уитни); ^c достоверность отличия от контроля, ^d достоверность отличия от контроля со скополамином (1.5 мг/кг), при $p \leq 0.05$ (критерий Фишера).

Таблица 3. Антиамнестический эффект соединения **5** на модели амнезии, вызванной максимальным электрошоком (методика УРПИ) [23]

Группа животных	Доза, мг/кг внутрибрюшинно	Обучение	Воспроизведение УРПИ через 24 ч после обучения		
		латентное время рефлекса, с	латентное время рефлекса, с	время нахождения на светлой площадке	количество животных, не зашедших в темную камеру, %
Интактные	—	22 ± 5	161 ± 20	178 ± 3	100
Контроль с МЭШ (120 В)		22 ± 5	54 ± 23	84 ± 25*	30\$
Соединение 5	0.1	17 ± 3	117 ± 27	121 ± 21	50
Соединение 5	0.05	15 ± 4	75 ± 23	120 ± 19	50
Соединение 5	0.01	19 ± 5	131 ± 25	160 ± 15*	70*
Мемантин	2.0	20 ± 4	106 ± 26	138 ± 27	40

Достоверность отличий от интактного контроля, при $P \leq 0.05$ (критерий Стьюдента), * достоверность отличий от контроля с МЭШ, при $P \leq 0.05$ (критерий Стьюдента), \$ достоверность отличий от интактного контроля, при $P \leq 0.05$ (критерий χ_2).

Таблица 4. Возможность восстановления фармакологически нарушенной памяти [27]

Группа	i.p. физ. раствор + i.c. физ. раствор	i.p. физ. раствор + i.c. анизомидин	i.p. соединение 4 + i.c. анизомидин
% избегания	95%*	17% $p < 0.001$	68%* $p = 0.003$

ослаблением памяти, и улучшения когнитивных функций человека.

Соединение **4** обладает еще одним уникальным свойством, которое делает его крайне многообещающим средством для коррекции слабой памяти, возникшей в результате различных неблагоприятных воздействий. А именно, возможностью восстановления фармакологически нарушенной памяти (табл. 4), и возможностью фармакологического усиления слабой памяти в момент напоминания (табл. 5).

Введение цыплятам соединения **4** перед обучением пассивному избеганию, сопряженным с нарушением синтеза белка, приводит к сохранению памяти. Животных обучали в стандартной модели

пассивного избегания, приводящей к формированию устойчивой памяти. Через 5 мин после обучения в боковые желудочки мозга вводили блокатор синтеза белка анизомидин (80 мкг, 10 мкл на полушарие). При тестировании через 24 ч память у животных, получавших анизомидин, была нарушена по сравнению с контролем. В то же время, введение 0.005 мг/кг соединения **4** за 30 мин до обучения увеличивало уровень избегания при тестировании через 24 ч у животных, получавших анизомидин (см. табл. 4).

Из представленных результатов видно, что введение соединения **4** перед обучением предотвращает развитие амнезии, вызванной блокадой синтеза белка в мозге. Это свойство соединения **4**

Таблица 5. Возможность фармакологического усиления слабой памяти в момент напоминания [27]

Группа	Слабое обучение	Слабое обучение + + напоминание	Слабое обучение + + напоминание + + соединение 4	Слабое обучение + + соединение 4
% избегания	35% $p = 0.063$	31% $p = 0.069$	78%* $p < 0.001$	37% $p = 0.057$

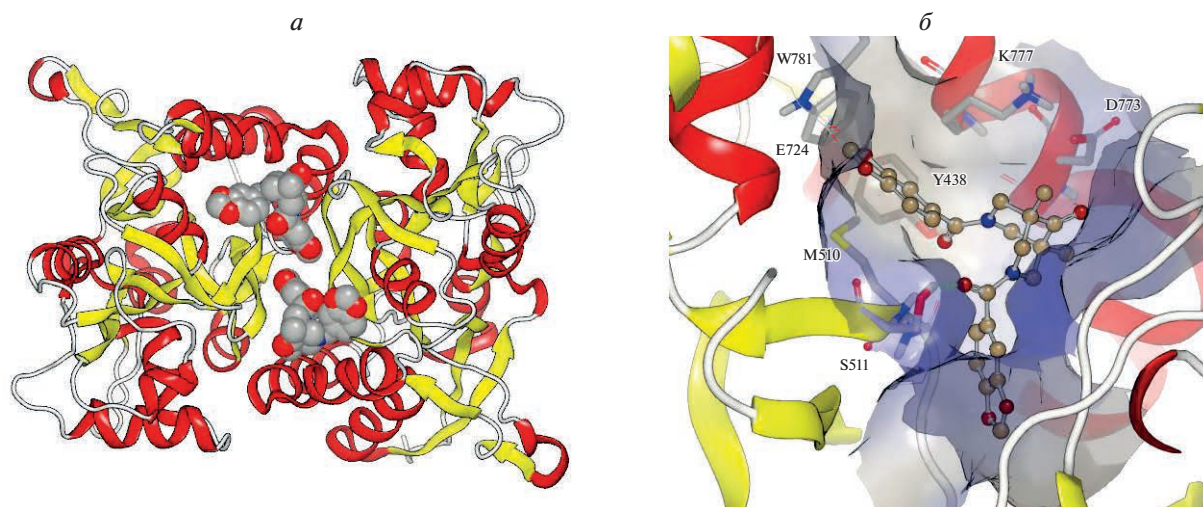


Рис. 6. (а) Способ связывания соединения **4** с GluA1 (флип). (б) Взаимодействие соединения **4** и GluA1 (флип) в сайте связывания ПАМ.

открывает возможность восстановления памяти, нарушенной в результате интоксикации путем фармакологического нарушения памяти, которое приводит к нарушению или снижению интенсивности метаболических процессов в мозге, например, при ослаблении или старении организма [27].

Возможность фармакологического усиления слабой памяти в момент напоминания: была использована экспериментальная модель слабого обучения в сочетании с процедурой напоминания для проверки способности соединения **4** усиливать процесс извлечения памяти [27]. Реактивацию памяти напоминанием проводили через 2 ч после слабого обучения; за 5 мин до напоминания животным вводили внутривенно 0.005 мг/кг соединения **4**, и тестировали память через 24 ч после обучения. Полученные результаты представлены в табл. 5 [27].

Представленные результаты показывают, что при тестировании памяти через 24 ч после слабого обучения напоминание (реактивация памяти) не приводит к увеличению уровня воспроизведения навыка. В то же время, реактивация памяти на фоне системного введения соединения **4** приводит к усилению памяти более чем на 200% по сравнению с животными, получавшими только напоминание или только введение соединения **4** через 2 ч после слабого обучения.

Следовательно, соединение **4** может быть использовано для усиления ослабленной памяти о ранее приобретенном опыте (о событиях, произошедших в прошлом), что открывает совершенно новые возможности его применения в клинике [27].

ДОКИНГ

Для детальной оценки возможности реализации различных способов связывания соединения **4** и его аналогов в сайте связывания ПАМ был осуществлен гибкий докинг с перебором возможных способов связывания с помощью программы Rosetta 3.5. Для этого в работе [22] были построены по гомологии 32 модели гомо- и гетеродимеров лиганд-связывающих доменов АМРА- и каинатных рецепторов, в том числе с альтернативным сплайсингом для АМРА-рецепторов и выполнен докинг соединения **4** во все модели.

Следует отметить, что по данным детального исследования возможных способов связывания весьма вероятным оказывается связывание в глубине модуляторного сайта двух молекул соединения **4** [22] по аналогии со связыванием циклотиазида (CTZ), молекулы которого занимают значительно меньший объем. При этом рассмотренный ранее способ связывания возможно следует рассматривать лишь как одну из начальных стадий взаимодействия лигандов такого типа с рецептором. Полученная конформация лиганда **4** показана на рис. 6 в комплексе с GluA1 (флип). Лиганд **4** образует две водородные связи с остатком серина S511. Описанный способ связывания наблюдается для большинства структур комплексов как с соединением **3**, так и с соединением **4** [22].

Таким образом, была найдена новая группа положительных аллостерических модуляторов АМРА-рецепторов на основе 3,7-дизабицикло[3.3.1]нонанового каркаса, концентрационно-зависимо увеличивающих амплитуду токов АМРА-рецеп-

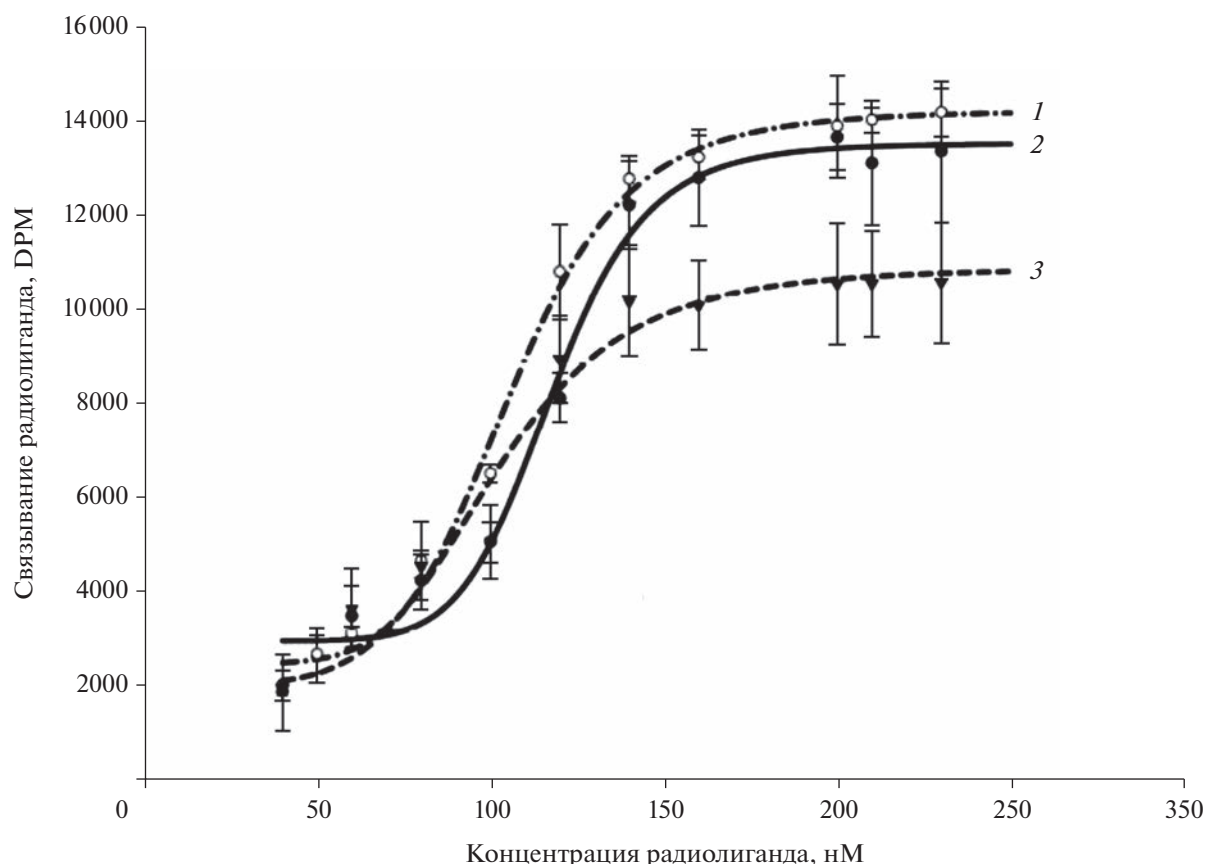


Рис. 7. Специфическое связывание $[^3\text{H}]\mathbf{5}$ на плазматических мембранах клеток гиппокампа (1), коры (2) и стриатума (3) крысы. По горизонтальной оси отложена концентрация радиолганда $[^3\text{H}]\mathbf{5}$, нМ. По вертикальной оси — связывание радиолганда, DPM [30].

торов в электрофизиологических экспериментах в субнаномолярном диапазоне.

СВЯЗЫВАНИЕ

Введение тритиевой метки в соединение **5** позволило получить его полный структурный аналог — радиолганд $[^3\text{H}]\mathbf{5}$, удельная активность которого составила 130 Ки/ммоль, а химическая чистота — 98.7% [29]. Последующие исследования молекулярно-биологической активности $[^3\text{H}]\mathbf{5}$ проводили методом радиолганд-рецепторного анализа, используя в качестве меченного тритием лиганда — $[^3\text{H}]\mathbf{5}$, а в качестве биологического материала — суспензию плазматических мембран клеток головного мозга крысы [30]. Поиск мест специфического связывания $[^3\text{H}]\mathbf{5}$ на поверхности предполагаемых клеточных мишеней позволил установить существование центров специфических взаимодействий соединения **5**, локализованных на плазматических мембранах клеток мозга крысы. Было также отмечено существование высокого порога насыщаемости предполагаемых мест взаимодействий

при низких концентрациях радиолганда, что может свидетельствовать об эффектах кооперативности связывания соединения **5**, когда при взаимодействии одной или нескольких молекул лиганда происходит экспонирование дополнительных центров связывания. Для более подробной количественной характеристики мест специфического связывания $[^3\text{H}]\mathbf{5}$ были использованы суспензии плазматических мембран клеток коры, гиппокампа и стриатума крысы, неспецифическое связывание радиолганда определяли в присутствии избытка немеченого соединения **5**.

Установлено, что связывание $[^3\text{H}]\mathbf{5}$ носит специфический характер и характеризуется во всех исследованных отделах константой диссоциации $K_d = 106 (\pm 8)$ нМ. Число мест специфического связывания ($B_{\max}$) в различных отделах головного мозга крысы оказалось неодинаково (рис. 7).

Наибольшее число мест специфических взаимодействий соединения **5** было обнаружено на плазматических мембранах клеток гиппокампа и коры головного мозга крысы (порядка 1200 пмоль/г

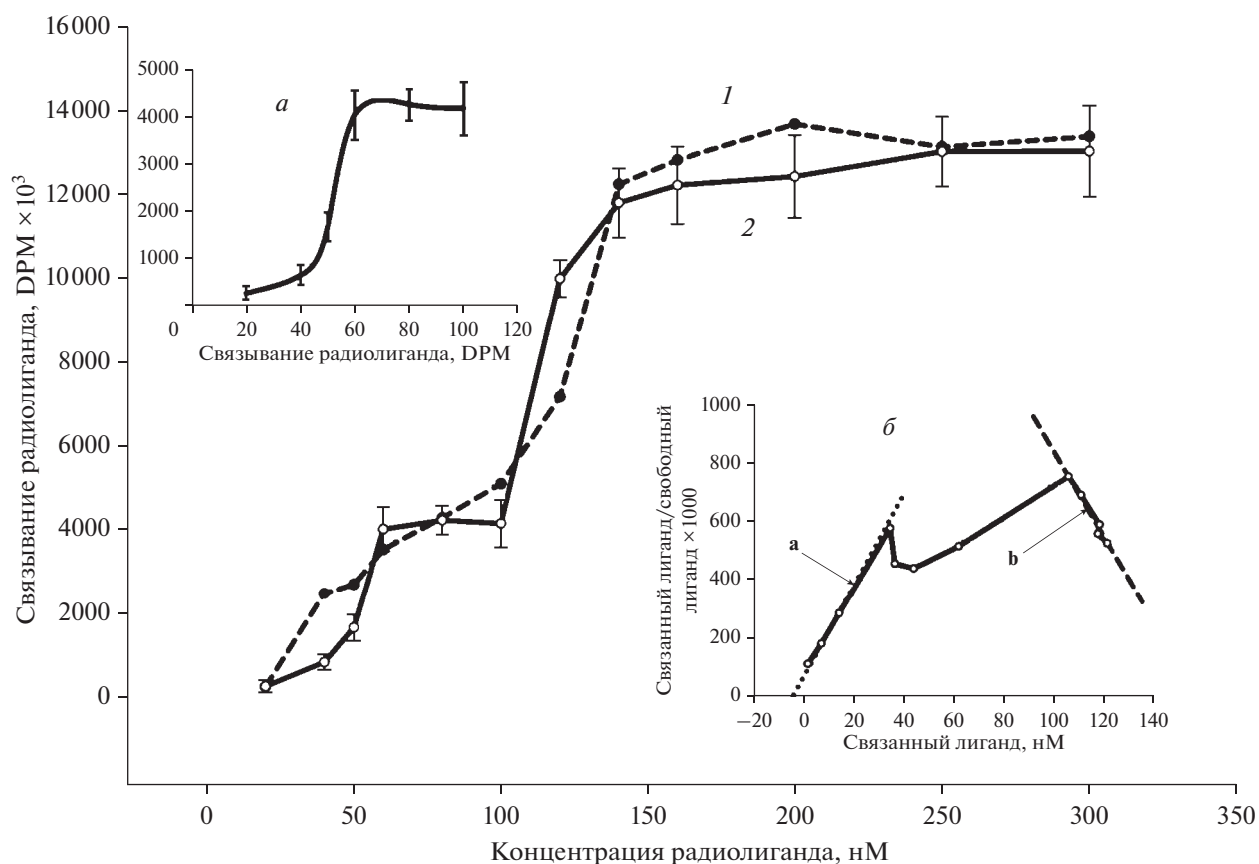


Рис. 8. Специфическое связывание [^3H]5 с плазматическими мембранами клеток коры головного мозга крысы. По горизонтальной оси отложена концентрация радиолганда [^3H]5, нмоль. По вертикальной оси — связывание радиолганда, DPM. Неспецифическое связывание определяли в присутствии немеченого соединения 5 (250 мкМ). 1 — специфическое связывание [^3H]5 с плазматическими мембранами. 2 — специфическое связывание [^3H]5 при предварительном насыщении суспензии плазматических мембран глутаматом. На рис. 8а детально представлена область специфического связывания [^3H]5 в присутствии глутамата, и она соответствует глутамат-зависимому участку специфического связывания [^3H]5. На рис. 8б показано специфическое связывание [^3H]5 в присутствии глутамата, представленное в виде графиков Скэтчарда. График Скэтчарда показывает отношение концентраций связанного лиганда к несвязанному лиганду [связанный/свободный] к концентрации связанного лиганда [связанный] (нмоль). Стрелка а соответствует глутамат-зависимому участку специфического связывания [^3H]5. Стрелка б соответствует независимо от глутамата сайту специфического связывания [^3H]5.

белка). Число мест специфического связывания [^3H]5, локализованных на плазматических мембранах клеток стриатума крысы, по сравнению с корой и гиппокампом, оказалось на 20–30% меньшим. Полученные характеристики связывания могут свидетельствовать о, вероятно, единой природе центров специфических взаимодействий [^3H]5 в головном мозге крысы, характеризующихся разной степенью плотности их локализации, в зависимости от отдела мозга крысы [30].

Было обнаружено, что присутствие глутамата в инкубационном буфере значительно увеличивает “неспецифическое” связывание [^3H]5 (при использовании избытка глутамата в качестве немеченого соединения вместо соединения 5), что может быть обусловлено формированием дополнительного чис-

ла мест связывания [^3H]5 на мембранах. Было выдвинуто предположение, что при взаимодействии глутамата с соответствующими ему мишенями (рецепторами) происходит открытие доступа 5 к дополнительным центрам его специфического связывания, локализованным на глутаматных рецепторах. Проверка данного предположения с использованием плазматических мембран клеток гиппокампа и коры головного мозга крысы подтвердила правильность выдвинутой гипотезы. Так, в условиях предварительного насыщения суспензии плазматических мембран глутаматом происходит экспонирование дополнительного сайта специфического связывания [^3H]5, характеризующегося константой диссоциации $K_d = 52$ нМ и мак-

симальным числом мест специфического связывания $B_{\max} = 360$ пмоль/г белка мембран (рис. 8).

Дополнительное место связывания было также обнаружено и в гиппокампе, причем основные характеристики данного сайта (K_d и $B_{\max}$) в коре и гиппокампе практически полностью совпали.

Полученные результаты свидетельствуют о существовании как минимум двух мест специфического связывания **5** на плазматических мембранах клеток головного мозга крысы [30]. Сайт связывания, характеризуемый более высокой аффинностью (K_d порядка 52 нМ) является, по-видимому, глутамат-зависимым и может быть локализован на АМРА — рецепторах. Второй сайт связывания не зависит от присутствия глутамата, однако может характеризоваться таким свойством, как кооперативность взаимодействия **5**, когда связывание специфических молекул лиганда способствует открытию дополнительных мест взаимодействий, локализованных вблизи первого участка связывания. Кроме того, сопоставление количеств мест специфического связывания [^3H]**5** и [^3H]Глу (установленных в одинаковых условиях проведения экспериментов) позволяет также предположить, что взаимодействие **5** на рецепторах глутамата не является пропорциональным соотношению 1 : 1 (лиганд : рецептор), а характеризуется кратностью 2 : 1 либо 4 : 1 (в зависимости от конкретного из двух обнаруженных нами центров специфического связывания [^3H]Глу) [30].

Проведенное исследование позволяет разработать методику скрининга биологически активных соединений, что открывает возможности для количественной оценки потенциальной модуляторной активности молекул-кандидатов в отношении локализованных на поверхности клеток мозга нейрорегуляторных рецепторных систем: системы [^3H]**5**—рецепторы глутамата, а также системы [^3H]**5**—глутамат-независимые молекулярные мишени **5**.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре представлены литературные и патентные данные по созданию и исследованию механизма действия и физиологической активности соединений класса производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов.

На основании данных по молекулярному моделированию взаимодействия различных ПАМ с аллостерическим сайтом связывания АМРА-рецептора была синтезирована группа новых оригинальных производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов, среди которых соединения **4** и **5** оказались одни-

ми из наиболее активных в мире на сегодняшний день положительных модуляторов АМРА рецепторов.

С целью доказательства отнесения к классу положительных модуляторов АМРА рецепторов и установления “классическим” электрофизиологическим методом количественных параметров действия различных концентраций соединений **4** и **5** на токи АМРА рецепторов, была проведена серия электрофизиологических экспериментов. Было показано, что соединения **4** и **5** концентрационно-зависимо увеличивают токи АМРА рецепторов в нейронах, начиная с концентрации 10^{-11} М. Введение тритиевой метки в соединение **5** позволило получить его полный структурный аналог — радиолиганд [^3H]**5**. Поиск мест специфического связывания [^3H]**5** на поверхности предполагаемых клеток-мишеней позволил установить существование центров специфических взаимодействий соединения **5**, локализованных на плазматических мембранах клеток мозга крысы. Полученные результаты свидетельствуют о существовании как минимум двух мест специфического связывания соединения **5** на плазматических мембранах клеток головного мозга крысы.

Таким образом, в обзоре представлены результаты последовательных научных исследований нового класса положительных модуляторов АМРА-рецепторов класса производных 3,7-диазабицикло[3.3.1]нонанов, начиная от теоретического предсказания структур соединений, их синтеза, изучения их влияния на токи АМРА рецепторов как доказательства отнесения их к классу ПАМ, изучения их активности и эффективности в поведенческих экспериментах, моделирующих как различные острые нарушения памяти и когнитивных функций, так и в хронических экспериментах, моделирующих патологию болезни Альцгеймера, изучение их молекулярного механизма взаимодействия с АМРА рецептором методами компьютерного 3D моделирования, радиолигандного исследования меченного соединения **5** с фракциями синаптических мембран гиппокампа мозга с целью определения “посадочных мест” этого ПАМ в мозге крыс. Все вышеописанное характеризует новые соединения **4** и **5** как наиболее активные среди известных ПАМ в мире, обладающие выраженным когнитивно-стимулирующим действием как у нормальных животных, так и в различных моделях патологического расстройства памяти, что указывает на их большой терапевтический потенциал.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hansen K.B., Wollmuth L.P., Bowie D., Furukawa H., Menniti F.S., Sobolevsky A.I., Swanson G.T., Swanger S.A., Greger I.H., Nakagawa T. et al. // *Pharmacol. Rev.* 2021. V. 73. P. 298–487.
<https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000131>
2. Palmer C.L., Cotton L., Henley J.M. // *Pharmacol. Rev.* 2005. V. 57. P. 253–277.
<https://doi.org/10.1124/pr.57.2.7>
3. Greger I.H., Esteban J.A. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2007. V. 17. P. 289–297.
doi: 10.1016/j.conb.2007.04.007
4. Lynch G. *Curr. Opin. Pharmacol.* // 2004. V. 4. P. 4–11.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2003.09.009>
5. Francotte P., de Tullio P., Fraikin P., Counerotte S., Goffin E., Pirotte B. // *Recent Pat. CNS Drug Discov.* 2006. V. 1. P. 239–246.
6. O'Neill M.J., Dix S. // *IDrugs.* 2007. V. 10. P. 185–192.
7. Григорьев В.В., Прошин А.Н., Кинзирский А.С., Бачурин С.О. // *Успехи химии.* 2009. Т. 78. № 5. С. 520–534.
8. Adler L.A., Kroon R.A., Stein M., Shahid M., Tarazi F.I., Szegedi A., Schipper J., Cazorla P. // *Biol. Psychiatry.* 2012. V. 72. P. 971–977.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.05.012>
9. O'Neill M.J., Bleakman D., Zimmerman D.M., Nisenbaum E.S. // *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 2004. V. 3. P. 181–194.
10. Goff D.C., Leahy L., Berman I., Posever T., Herz L., Leon A.C., Johnson S.A., Lynch G. // *J. Clin. Psychopharmacol.* 2001. V. 21. № 5. P. 484–487.
11. Alt A., Nisenbaum E.S., Bleakman D., Witkin J.M. // *Biochem. Pharmacol.* 2006. V. 71. № 9. P. 1273–1288.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.12.022>
12. Xiaoyu Hu, Xuebi Tian, Xiao Guo, Ying He, Haijun Chen, Jia Zhou, Zaijie Jim Wang // *Neuropharmacology.* 2018. V. 137. P. 50–58.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.020>
13. Lauterborn J.C., Pineda E., Chen L.Y., Ramirez E.A., Lynch G., Gall C.M. // *Neuroscience.* 2009. V. 159. № 1. P. 283–295.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.12.018>
14. Lauterborn J.C., Palmer L.C., Jia Y., Pham D.T., Hou B., Wang W., Trieu B.H., Cox C.D. et al. // *J. Neurosci.* 2016. V. 36. № 5. P. 1636–1646.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3157-15.2016>
15. Тихонова И.Г., Лавров М.И., Палюлин В.А., Зефиоров Н.С. // *ДАН.* 2004. Т. 399. № 2. С. 268–270.
16. Jin R., Clark S., Weeks A.M., Dudman J.T., Gouaux E., Partin K.M. // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. P. 9027–9036.
17. Harms J.E., Benveniste M., Maclean J.K., Partin K.M., Jamieson C. // *Neuropharmacology.* 2013. V. 64. P. 45–52.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.06.008>
18. Лавров М.И., Григорьев В.В., Бачурин С.О., Палюлин В.А., Зефиоров Н.С. // *Доклады Академии наук.* 2015. Т. 464. № 5. С. 626–628.
<https://doi.org/10.7868/S0869565215290265>
19. Бачурин С.О., Григорьев В.В., Зефиоров Н.С., Лавров М.И., Лаптева В.Л., Палюлин В.А. Патент РФ RU № 2333211. Опубликовано: 10.09.2008, Бюл. № 25.
20. Лавров М.И., Лаптева В.Л., Григорьев В.В., Палюлин В.А., Бачурин С.О., Зефиоров Н.С. // *Хим. фарм. журн.* 2012. Т. 46. № 2. С. 27–30.
21. Кузнецов А.И., Басаргин Е.Б., Московкин А.С., Ба М.Х., Мирошниченко И.В., Ботников М.Я., Унковский Б.В. // *Химия гетероциклических соединений.* 1985. № 12. С. 1679–1685.
22. Lavrov M.I., Karlov D.S., Voronina T.A., Grigoriev V.V., Ustyugov A.A., Bachurin S.O., Palyulin V.A. // *Molecular Neurobiology.* 2020. V. 57. P. 191–199.
<https://doi.org/10.1007/s12035-019-01768-6>
23. Григорьев В.В., Лавров М.И., Замойский В.Л., Гарибова Т.Л., Палюлин В.А., Бачурин С.О. // *Доклады Академии наук.* 2019. Т. 488. № 2. С. 217–220.
24. Vignisse J., Steinbusch H.W., Grigoriev V., Bolkunov A., Proshin A., Bettendorff L., Bachurin S., Strekalova T. // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2014. V. 24. № 2. P. 309–320.
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.06.010>
25. Hamill O.P., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sigworth F.J. // *Pflugers Arch.* 1981. V. 391. № 2. P. 85–100.
26. Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л. // *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств.* Ч. 1. М.: изд. ФГБУ “НЦЭМСП” Минздравсоцразвития России, 2012. С. 276–297.
27. Анохин К.В., Бачурин С.О., Григорьев В.В., Зефиоров Н.С., Комиссарова Н.В., Лавров М.И., Палюлин В.А., Тиунова А.А. Патент РФ RU № 2417082. Опубликовано: 27.04.2011. Бюл. № 12.
28. Nagaev I.Yu., Shevchenko K.V., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F., Grigoriev V.V., Lavrov M.I., Bondarenko E.V., Kalashnikova E.E. // *Mendelev Commun.* 2018. V. 28. P. 64–65.
29. Мясоедов Н.Ф., Нагаев И.Ю., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Григорьев В.В., Лавров М.И., Бондаренко Е.В., Калашникова Е.Е. Патент РФ RU № 2668982. Опубликовано: 05.10.2018. Бюл. № 28.
30. Vyunova T.V., Andreeva L.A., Shevchenko K.V., Grigoriev V.V., Palyulin V.A., Lavrov M.I., Bondarenko E.V., Kalashnikova E.E., Myasoedov. // *Current Molecular Pharmacology.* 2020. V. 13. P. 216–223.
<https://doi.org/10.2174/1874467213666200303140834>

Creation and Study of the Mechanism of Action of Compounds of a New Class of Positive Modulators of AMPA Receptors – Derivatives of 3,7-Diazabicyclo[3.3.1]nonanes

V. V. Grigoriev^a, M. I. Lavrov^b, V. A. Palyulin^b, T. L. Garibova^c, K. V. Anokhin^d, and S. O. Bachurin^a

^a *Institute of Physiologically Active Compounds at Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Moscow Region, Russia*

^b *Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^c *Federal State Budgetary Scientific Institute “Scientific Research Institute of Pharmacology named after V.V. Zakusova, Moscow, Russia*

^d *Federal State Budgetary Scientific Institute “Scientific Research Institute of Normal Physiology named after P.K. Anokhin”, Moscow, Russia*

The review presents the results of consistent scientific studies of a new class of positive allosteric modulators of AMPA receptors from the class of 3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonane derivatives, starting from the theoretical prediction of the structures of compounds, their synthesis, and studying their effect on the currents of AMPA receptors as evidence of assignment them to the PAM class, studying their activity and effectiveness in behavioral experiments simulating both various acute impairments of memory and cognitive functions, and in chronic experiments simulating the pathology of Alzheimer’s disease, studying their molecular mechanism of interaction with the AMPA receptor using 3D computer modeling, radioligand studies of labeled compound **5** with fractions of synaptic membranes of the brain hippocampus in order to determine the “seats” of this PAM in the brain of rats. All of the above characterizes new compounds of this class as the most active among known PAMs in the world, having a pronounced cognitive-stimulating effect both in normal animals and in various models of pathological memory disorder, which indicates their great therapeutic potential.

Keywords: AMPA receptors, positive allosteric modulators, cognitive stimulating effect, radioligand binding

УДК 615.214

КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ И НООТРОПНЫЕ ПРЕПАРАТЫ: МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ И СПЕКТР ЭФФЕКТОВ

© 2023 г. Т. А. Воронина*

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия*

Поступила в редакцию 23.11.2022 г.

После доработки 24.11.2022 г.

Принята к публикации 25.11.2022 г.

В обзоре представлены сведения о когнитивных дисфункциях, возникающих при различных заболеваниях и состояниях, и данные, касающиеся истории создания и особенностей действия ноотропов. В обзоре представлены механизмы действия и спектры фармакологических эффектов ноотропных препаратов из различных групп: препараты, влияющие на метаболизм мозга, на нейромедиаторные системы (холинергическую, глутаматергическую, ГАМК-ергическую и другие), церебральные вазодилататоры, нейропептиды и их аналоги, антиоксиданты, мембранопротекторы и другие. Рассмотрены свободнорадикальная и митохондриальная концепции старения и возможности применения ноотропов для коррекции когнитивных нарушений, возникающих при старении, деменциях и других нейродегенеративных заболеваниях.

Ключевые слова: ноотропы, память, деменция, болезнь Альцгеймера, аутизм, болезнь Паркинсона, старение, пирацетам и аналоги, холинергические средства, антиоксиданты, мексидол, вазодилататоры

DOI: 10.31857/S102781332302019X, **EDN:** UDDQJG

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших функций центральной нервной системы, наряду с другими высшими функциями мозга (интеллект, праксис, гнозис, речь и др.), является память, которая фиксирует, сохраняет и использует информацию, и нарушение памяти является одним из наиболее часто встречаемых проявлений различных заболеваний. Различают кратковременную память, которая имеет ограниченный объем, долговременную память и процесс консолидации следа памяти, при котором возникают структурные интранейрональные изменения, обеспечивающие длительную сохранность памятного следа [1].

Нарушение памяти является обязательным признаком деменций различного генеза: сосудистые, атрофические, травматические, постэнцефалические, интоксикационные и др.) и деменция определяется как приобретенное в результате органического заболевания головного мозга диффузное нарушение высших мозговых функций, прежде всего памяти, приводящее к существенным затруднениям в повседневной жизни [1–3]. Распространенность деменций среди населения весьма значительна, особенно в пожилом возрасте: от 5 до 10% лиц старше 65 лет имеют деменцию [1]. Ам-

незия является основным клиническим проявлением Корсаковского синдрома у больных хроническим алкоголизмом, тогда как другие высшие мозговые функции (интеллект, праксис, гнозис, речь), у этих больных, как правило, не изменены [1]. Выраженными мнестическими расстройствами характеризуется болезнь Альцгеймера, при которой повышенная забывчивость на текущие события является ранним признаком заболевания, а затем появляются и другие когнитивные нарушения — апракто-агностический синдром, речевые нарушения по типу амнестической или сенсорной афазии, и развернутые стадии нарушения памяти характеризующиеся сочетанием фиксационной, антероградной и ретроградной амнезий [2–4]. При болезни Альцгеймера, в отличие от нарушений памяти при Корсаковском синдроме, поражаются все виды долговременной памяти: эпизодическая, семантическая, процедурная и непроизвольная и снижается объем и время удержания следа в оперативной памяти.

Когнитивные дефициты наблюдаются также и при других нейродегенеративных заболеваниях: болезни Паркинсона, рассеянном склерозе, хореи Гентингтона, а также у детей, с такими патологиями как олигофрения, аутизм, синдром гиперактивности с дефицитом внимания и др.) [1, 5]. Снижение памяти может наблюдаться у больных при различных неврологических, психиче-

* Адресат для корреспонденции: 125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8, e-mail: voroninata38@gmail.com.

ских и соматических заболеваниях: нарушениях мозгового кровообращения, в том числе инсультах, при легочной, печеночной и почечной недостаточности, черепно-мозговой травме, онкологии мозга, астеническом синдроме, эпилепсии. Когнитивные нарушения сопровождают длительную гипогликемию, выявляются при гипотиреозе, дефиците витамина В₁₂ и фолиевой кислоты и при различных интоксикациях, в том числе лекарственными средствами: центральными холинолитиками, трициклическими антидепрессантами, нейролептиками, препаратами бензодиазепинового ряда при длительном применении в больших дозах, наркотическими анальгетиками и некоторыми другими препаратами.

Нарушение когнитивных функций: сначала легкое, нерезкое ухудшение концентрации внимания, усвоения новой информации: имен, цифр, названий, вещей и извлечения из памяти старой информации сопровождает старение и наиболее часто возникает в возрастном промежутке от 40 до 65 лет и рассматривается как нормальное возрастное, а не патологическое, нарушение памяти [1, 6, 7]. Ослабление памяти при нормальном старении коррелирует с нарушением метаболизма мозга и церебрального кровообращения. Ухудшение памяти может наблюдаться у здоровых людей при стрессовых ситуациях, при переутомлении, вызванном чрезмерными физическими и умственными нагрузками, гормональными нарушениями, дефиците витаминов.

Для лечения различных когнитивных нарушений в клинической и амбулаторной практике применяют ноотропные препараты (в англоязычной литературе их еще называют *smart drugs* или *cognitive enhancers*), которые представляет собой одну из наиболее многочисленных групп лекарственных средств. Ноотропы можно определить как группу нейротропных препаратов, обладающих способностью улучшать память, восстанавливать нарушенную познавательную когнитивную функцию мозга, улучшать обучение и воспроизведение информации, стимулировать активное бодрствование и повышать устойчивость организма к неблагоприятным, экстремальным факторам [8–12]. Понятие ноотропное действие включает также влияние на нарушенные высшие корковые функции: уровень суждений, критического анализа, улучшение кортикального контроля субкортикальной активности, мышления, речи, внимания, повышение уровня бодрствования, ясности сознания. По определению ВОЗ, к группе ноотропных препаратов относятся “лекарственные средства, способные оказывать прямое активирующее влияние на процессы обучения, улучшающие память и умственную деятельность, а также повышающие устойчивость мозга к агрессивным воздействиям”.

Термин “ноотропы” (греч. *noos* — “разум, мышление”; *tropes* — “направление”) был предложен бельгийскими учеными К. Giurgea и V. Scandia (фирма UCB) для обозначения нового класса препаратов, положительно влияющих на когнитивные, интегративные функции мозга [8–10]. Этими исследователями при поиске новых гипноседативных препаратов было показано, что соединение UCB-6215: 2-оксо-1-пирролидон-ацетамид (заключенная ГАМК), получившее в дальнейшем название пирацетам, улучшает в эксперименте транскортикозальные вызванные потенциалы, а у больных наблюдается улучшение памяти без ожидаемого гипноседативного эффекта. Пирацетам (Ноотропил) является первым препаратом из группы ноотропов, который был ресинтезирован во многих странах мира под разными товарными названиями. По спектру фармакологических эффектов ноотропы существенно отличаются от других психотропных препаратов. И неслучайно вторая глава первой книги по ноотропам “*Nootropil*”, изданная фирмой UCB в 1980 году, была оригинально названа “*What nootropil is not*” (Что не вызывает ноотропил), в которой были представлены данные об отсутствии у ноотропила эффектов по тестам оценки известных психотропных веществ из различных групп.

Основным эффектом ноотропных препаратов является собственно ноотропное действие — влияние на процессы обучения и памяти, на нарушенные высшие корковые функции, задержку умственного развития. Наряду с этим, спектр фармакологических эффектов различных ноотропов может включать: психостимулирующий эффект — влияние на интеллектуальную и моторную заторможенность, апатию, психическую инертность; антиастенический эффект — влияние на психическую и физическую астению, вялость, слабость, истощаемость; адаптогенное действие — повышение переносимости к различным экстремальным экзогенным факторам; анксиолитический эффект — влияние на эмоциональную лабильность, раздражительность, беспокойство; противогипоксическое, нейропротекторное действие, способность улучшать мозговое кровообращение и некоторые другие эффекты [9–16]. Особенностью действия многих ноотропных препаратов является их способность облегчать межполушарную транскортикозальную передачу в ЦНС, что вызывает улучшение как межполушарного, так и внутривнутриполушарного переноса информации [10, 12].

Ноотропные препараты имеют малую токсичность, незначительные побочные эффекты, как правило, не вызывают речевого и двигательного возбуждения, состояния беспокойства и тревоги, развития привыкания и пристрастия, истощения функциональных возможностей организма; они хорошо сочетаются с препаратами из других групп. Противопоказаниями к применению отдельных

ноотропов, с учетом состояния больного, являются: острая почечная недостаточность, сахарный диабет, нейроинфекции, эпилепсия, психическое возбуждение; терапия ноотропами не рекомендуется при стойком и значительном нарушении психической деятельности и интеллекта.

Группа ноотропных препаратов чрезвычайно разнообразна как по химическому строению, так и по механизмам действия. Описаны различные классификации веществ с ноотропным действием. Например, Kumar и соавторы (2016 г) выделяет 7 групп препаратов с ноотропным действием: рацетамы, ампакины, холинергические вещества, витамины группы В и их синтетические аналоги, вещества природного происхождения, пептиды и Smart вещества [14], а Malík, M., Tlustoš, P. (2022 г) классифицирует вещества с ноотропным действием на 4 группы: классические ноотропные препараты, вещества, повышающие метаболизм мозга, холинергические ноотропы и растения и их экстракты [15].

Предлагаемая в настоящем обзоре классификация гетерогенной группы ноотропных средств представляет собой вариант (с уточнениями и дополнениями) классификации ноотропов, разработанной нами ранее [11, 12], и основанной на представлениях о преимущественном компоненте механизма действия препарата. Следует учитывать, что отдельные ноотропные препараты являются политаргетными и реализуют эффект через включение нескольких компонентов механизма действия.

КЛАССИФИКАЦИЯ ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ НООТРОПНЫМ, НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

1. Пирролидоновые ноотропные препараты (рацетамы) с преимущественным влиянием на метаболизм мозга: пирацетам, оксирацетам, анирацетам, прамирацетам, этирацетам, дипирацетам, ролзирацетам, небрацетам, нефирацетам, фенотропил (фенилпирацетам) и др.

2. Вещества, влияющие на холинергическую систему.

2.1. Вещества, вызывающие усиление синтеза ацетилхолина и его выброса: холин хлорид, лецитин, фосфотидилхолин, диметиламиноэтанол (деанол), меклофеноксат, центрофеноксин, пиритинол, ацетил-L-карнитин, цитихолин и др.

2.2. Ингибиторы ацетилхолинэстеразы: физостигмин, такрин, амиридин, донепезил, ривастигмин, галантамин, метрифонат и др.

3. Вещества, влияющие на систему возбуждающих аминокислот: глутаминовая кислота, мемантин, глицин, милацемид, нооглютил, ампасе и др.

4. Вещества, влияющие на систему ГАМК: гамма-малон, пантогам, пикамилон, дигам, фенибут, оксibuтират натрия, лития, кальция и др.

5. Нейропептиды и их аналоги: АКТГ, соматостатин, вазопрессин, ангиотензин-II, тиролиберин, нейропептид Y, субстанция P и их фрагменты и аналоги, церебролизин, кортексин, семакс, ноопепт (пептидный аналог пирацетама) и др.

6. Вазоактивные, нейропротекторные препараты: ницерголин, винкамин, винпоцетин, нимодипин, циннаризин, флунаризин и др.

7. Антиоксиданты, антигипоксанты, мембраномодуляторы: мексидол, дибунол, убихинон, пиридинол, атеровит, альфа-токоферол, эмоксилин, селен, и др.

8. Витамины, их аналоги, нейростероиды, мелатонин и вещества растительного происхождения: витамины E, B6, B12, никотинамид, фолиаты, тиамин, альфа-липовая кислота, фолиевая кислота, оротовая кислота, янтарная кислота, гинго билоба, танакан, женьшень, лимонник и др.

С учетом преимущественного клинического эффекта ноотропные средства можно разделить на **препараты с доминирующим влиянием на мнестические функции:** пирролидоновые ноотропы, препараты, влияющие на холинергическую систему, вещества, влияющие на глутаматергическую систему, нейропептиды и их аналоги и **препараты, сочетающие выраженное нейропротекторное действие с ноотропным эффектом:** вазодилаторы, антагонисты кальция, антиоксиданты, мембранопротекторы и вещества, влияющие на систему ГАМК.

Дополнительно можно выделить:

Вещества, влияющие на процесс нейродегенерации при болезни Альцгеймера: вещества уменьшающие синтез и влияющие на агрегацию, деагрегацию и депонирование бета-амилоида и производящие очистку амилоидных бляшек, хелатирующие металлы, вещества, уменьшающие гиперфосфорилирование белка тау и блокаду тау-агрегации, увеличивающие уровень шаперонов, противовоспалительные средства, статины и др.

Препараты, используемые для лечения синдрома дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ): метилфенидат, атомоксетин, модафенил, фенибут, фенотропил и др.

Комбинированные препараты: фезам (пирацетам и циннаризин), винтотропил (пирацетам и винпоцетин), ороцетам (пирацетам и оротовая кислота), диапирам (пирацетам и диазепам), нейронал (пирацетам и янтарная кислота, рибоксин, никотинамид, рибофлавин-мононуклеотид, пиридоксин), инстенон (гексабидин, этамиван, этафиллин), цитофлавин (янтарная кислота, рибоксин, никотинамид, рибофлавин-мононуклеотид) и др.

Ниже представлены характеристики наиболее широко применяемых в России ноотропов, с ана-

лизом спектров их фармакологической активности и механизмов действия.

Ноотропы пирролидинового ряда. Согласно экспериментальным и клиническим данным, основными эффектами пирацетама и большинства его аналогов являются: ноотропный, противогипоксический и анксиолитический, а механизм реализации этих эффектов поликомпонентный, но, прежде всего, связан с влиянием на метаболические процессы и кровообращение головного мозга [10, 11, 17–19]. Показано, что пирацетам повышает синтез фосфолипидов, активирует аденилатциклазу, повышает уровень АТФ, усиливает утилизацию глюкозы в мозге, увеличивает проницаемость клеточных и митохондриальных мембран для посредников цикла Кребса, увеличивает синтез цитохрома b5 [20–22]. Пирацетам обладает антиоксидантным действием [23] и увеличивает плотность холинергических рецепторов [24, 25], взаимодействует с некоторыми нейропептидами (субстанция Р, вазопрессин, адренокортикотропный гормон) [19]. Установлено, что пирацетам, активирует AMPA подтип глутаматных рецепторов, не влияет на NMDA-рецепторы нейронов, что приводит к увеличению выхода кальция из клетки [26, 27]. Пирацетам улучшает микроциркуляцию в ишемизированных зонах мозга, ингибирует агрегацию активированных тромбоцитов, оказывает защитное действие при экстремальных воздействиях на мозг, вызываемых гипоксией, интоксикациями, электрошоком [11, 19, 28, 29].

Фенилпирацетам — фенильный аналог пирацетама (торговые названия: фенотропил, карфедон, фонтурацетам) был разработан в Институте медико-биологических проблем как психостимулятор нового поколения, способный повышать психическую и физическую работоспособность космонавтов на различных этапах космических полетов. В эксперименте установлено, что фенилпирацетам улучшает обучение и память, оказывает антиамнестическое действие, активизирует оперантное поведение, обладает анксиолитическим, антиастеническим, противосудорожным действием, ослабляет седативное действие бензодиазепинов, повышает устойчивость к холоду, улучшает сон [29–31]. На модели ишемии мозга фенилпирацетам улучшает когнитивные функции, уменьшает проявления неврологического дефицита и превосходит по эффективности пирацетам [32, 33]. Показано, что фенилпирацетам не связывается с ГАМК-А, ГАМК-В и дофаминовыми рецепторами, серотониновым рецептором 5-HT₂, но является модулятором синаптической передачи и связывается с $\alpha 4\beta 2$ никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами в коре головного мозга ($IC_{50} = 5.86$ мкМ) [34, 35].

Ноотропы с холинергическим механизмом действия. **Фосфатидилхолин** (лецитин) является одним из основных липидных компонентов клеточных мембран, и холин, высвобождаясь из лецитина, является предшественником синтеза ацетилхолина [36]. Показано, что введение фосфатидилхолина мышам (в условиях модели деменции) или больным с когнитивными дисфункциями и деменцией увеличивает концентрацию ацетилхолина в головном мозге и улучшает память [37–39]. **Ацетил-L-карнитин** является источником предшественников ацетилхолина и оказывает отчетливый ноотропный эффект [40]. **Деанол** (диметиламиноэтанол, ДМАЕ) является предшественником холина и обладает также выраженным антиоксидантным действием [18, 41]. В эксперименте деанол улучшает обучение и память, ослабляет амнезию, вызванную скополамином [42, 43]. Деанол является вторым структурным компонентом меклофеноксата, который, также, как и деанол, увеличивает уровень холина в мозге, обладает антиоксидантным действием, улучшает память, снижает уровни провоспалительных медиаторов и уменьшает повреждение нейронов при ишемии мозга [18, 44]. **Пиритинол** (состоит из двух молекул витамина В6 через дисульфидный мостик) улучшает обучение и память, в том числе у старых животных и человека, повышает активность холинацетилтрансферазы, что способствует накоплению холина в холинергических нейронах, увеличивает в мозге уровень ацетилхолина, обладает антиоксидантным действием [45–48].

Ноотропы с ГАМК-ергическим механизмом действия. **Пантогам** (D-изомер гомопантотеновой кислоты) и **пантогам актив** (рацетам гопантеновая/D-, L-гопантеновая кислота) — оригинальные отечественные ноотропные препараты, спектр фармакологических эффектов которых, кроме ноотропного эффекта, включает нейропротекторный, противогипоксический, противосудорожный, анксиолитический, антиастенический, вегетостабилизирующий эффекты [49–51]. Показана способность пантгама и пантогама актива, улучшать процессы обучения и памяти, оказывать антиамнестическое и противогипоксическое действие, ослаблять судороги, вызванные коразолом и бемегридом [52, 53]. Механизм действия препаратов определяется наличием в его структуре ГАМК и связан, прежде всего, с прямым влиянием на ГАМК-В рецептор и улучшением метаболизма ГАМК [54]. Пантогам повышает устойчивость мозга к гипоксии и воздействию токсических веществ, стимулирует анаболические процессы в нейронах. Пантгам и пантогам актив нашли широкое применение в клинической практике, в том числе у детей с первых дней жизни.

Нейропептиды и их аналоги. **Семакс**, разработанный на основе фрагмента адренокортикотропного гормона — АКТГ(4–10), в Институте

молекулярной генетики РАН и на кафедре физиологии человека и животных Биологического факультета МГУ является одним из первых отечественных лекарственных средств пептидной природы [55, 56]. В эксперименте показано, что семакс стимулирует процессы обучения, ослабляет амнезию, вызванную различными воздействиями, нормализует кровообращение мозга, обладает антигипоксическим и анксиолитическим действием [56–59]. Семакс снижает уровень глутаматной эксайтотоксичности и оксидативного стресса, увеличивает сопряжение окисления и фосфорилирования в митохондриях, что в условиях дефицита кислорода сохраняет высокий уровень образования АТФ, повышает содержание в мозговой ткани нейротрофических факторов [55–57, 60]. В практической медицине семакс показал эффективность в лечении ишемического инсульта, хронических cerebro-vasкулярных заболеваний, черепно-мозговой травмы, хореи Гентингтона, различных форм интеллектуально-мнестических и астено-неврологических расстройств, мигрени и невралгии тройничного нерва [61, 62].

Ноопепт (этиловый эфир *N*-фенилацетил-*L*-пролилглицина) — непептидный прообраз пирацетама, синтезирован и изучен в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова. В экспериментальных исследованиях показано, что ноопепт обладает ноотропными и противогипоксическими свойствами и превосходит по активности пирацетам [63]. Ноотропный эффект препарата может быть связан с образованием в процессе его метаболизма циклопролилглицина, аналогичного по структуре эндогенному циклическому дипептиду, обладающему антиамнестической активностью. Изучение первичных взаимодействий ноопепта более чем со 100 известными рецепторными образованиями, выполненное компанией CEREP (Франция) не привело к ожидаемому выявлению первичных мишеней [64]. Показано, что ноопепт обладает холинопозитивным эффектом [65], усиливает экспрессию нейротрофинов NGF BDNF [66] и селективно увеличивает ДНК-связывающую активность HIF-1 (фактор, индуцирующий гипоксию). Эти данные, с учетом функциональной значимости генов, активируемых этим фактором транскрипции, позволяют рассматривать HIF-1 позитивный эффект в качестве первичного механизма действия ноопепта [64].

Вазоактивные, нейропротекторные препараты. **Ницерголин** (алкалоид спорыньи) оказывает ноотропное и нейропротекторное действие, улучшает холинергическую нейротрансмиссию [67], защищает нейроны от токсичности β -амилоида [68], является антагонистом α 1-адренорецепторов [69], ингибирует агрегацию тромбоцитов, способствует увеличению утилизации кислорода и глюкозы, обладает антиоксидантными свойствами [70]. **Винпоцетин** — полусинтетическое производное алкалоида винка-

мина, который содержится в *Vinca minor* (барвинок) обладает ноотропным и нейропротекторным действием. Винпоцетин является блокатором вольтаж-зависимых натриевых каналов [71, 72], селективным ингибитором Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой циклической нуклеотидфосфодиэстеразы 1-го типа, повышает уровень в мозге АТФ, ингибирует агрегацию тромбоцитов, снижает вязкость крови, увеличивает мозговой кровоток, увеличивает потребление глюкозы и кислорода тканями головного мозга [73–76].

Антиоксиданты, антигипоксиканты, мембранопротекторы способны улучшать процессы обучения и памяти, в том числе при заболеваниях, сопровождающихся нейродегенерацией. Показано, что ноотроп **центрофеноксин** сначала расщепляется на парахлорофеноксиуксусную кислоту и диметил-аминоэтанол (ДМАЭ), который встраивается в клеточную мембрану нервных клеток в виде фосфатидил ДМАЭ, остается там длительное время и является сильным ингибитором ОН свободных радикалов [77]. В условиях патологии (старение, стресс) он увеличивает текучесть мембраны, защищает мембранные липиды от действия свободных радикалов, уменьшает концентрацию внутриклеточного K^+ и увеличивает содержание воды в клетке, т.е. уменьшает вызванные патологией сдвиги [77]. Мембранотропными, антиоксидантными и противогипоксическими свойствами обладает и созданный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова **мексидол** (2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат), спектр фармакологической активности которого включает ноотропное, нейропротекторное, анксиолитическое, антидепрессивное, противосудорожное, антиалкогольное и некоторые другие эффекты [78–81]. В эксперименте показано, что мексидол обладает выраженным антиамнестическим эффектом в жестких тестах амнезии, вызванных проведением максимального электрошока или депривацией парадоксальной фазы сна, не уступает по эффективности в этих тестах ноотропам центрофеноксину и клерегилу и превосходит как по антиамнестической активности, так и по эффективности пирацетам: доза мексидола, оказывающая антиамнестическое действие, в 2 раза меньше, а эффект выше, чем у пирацетам [78, 79, 82, 83].

Мексидол как в эксперименте, так и в клинике, оказывает выраженное нейропротекторное действие, в том числе при ишемическом и геморрагическом инсультах, улучшает мозговое кровообращение. В эксперименте показано, что мексидол у крыс с геморрагическим инсультом улучшает нарушенные процессы обучения и памяти, повышает выживаемость животных, уменьшает проявления неврологических дефицитов, что сопровождается нормализацией концентраций ТБК-активных продуктов в крови и гомогенатах коры головного мозга

крыс и свидетельствует об участии антиоксидантных механизмов в реализации ноотропного и нейропротекторного эффектов мексидола [84].

В клинической практике мексидол показал эффективность при лечении легких и умеренных когнитивных нарушений, наблюдаемых у больных врачами в широкой терапевтической практике [85], при лечении когнитивных нарушений у пациентов с сосудистыми заболеваниями головного мозга, в том числе при инсультах [86–89], при додементных когнитивных расстройствах [90, 91], а также в комплексной терапии болезни Альцгеймера [92], болезни Паркинсона [93–96], рассеянного склероза [97, 98].

Установлено, что вещества, обладающие антиоксидантной и антигипоксической активностью (альфа-токоферол, мелатонин, хелатные агенты, аскорбиновая кислота, мексидол, гидрохлорида цистеины, янтарная кислота и некоторые другие) способны не только улучшать когнитивные функции, но и увеличивать продолжительность жизни лабораторных животных [99–104].

Широкое применение ноотропы получили при нарушениях когнитивных функций, возникающих при старении и нейродегенеративных заболеваниях, часто сопровождающих старение.

Современные концепции старения рассматривают окислительный стресс, с образованием активных форм кислорода (АФК), и митохондриальную дисфункцию в качестве ключевых причин последующей гибели клеток [104–109]. Согласно свободнорадикальной теории старения, возникающий при старении дисбаланс оксидантных и антиоксидантных систем приводит к генерации АФК, прежде всего, в митохондриях клеток, что вызывает множественное повреждение различных макромолекул и структур: ДНК, хроматина, белков, липидов, мембран, коллагена, нарушает регуляцию внутриклеточного уровня кальция и др., что приводит к окислительному стрессу, который запускает каскад апоптоза, приводящий к программируемой гибели клеток и способствует возникновению возрастных патологических процессов и нейродегенеративных заболеваний [104, 106, 107, 110–113].

Согласно митохондриальной теории в основе старения лежит прогрессирующая дисфункция митохондрий в различных тканях организма: митохондрии изменяют свою структуру, снижается скорость транспорта электронов, ограничивается энергопродуктирующая функция, нарушается баланс оксидантных и антиоксидантных систем, происходят мутации митохондриальной ДНК, что служит основой для развития нейродегенеративных процессов и формирования возрастной патологии, в том числе нарушения памяти [104–105, 114–116]. Возрастные нарушения дыхания митохондрий и высокая частота мутаций в мтДНК вы-

являются не только при старении, но и у лиц с нейродегенеративными заболеваниями (болезнями Альцгеймера и Паркинсона, деменцией, хореей Хантингтона, а также при миопатиях скелетных и сердечной мышц, двигательных расстройствах и др.) [116, 117].

Таким образом, при нарушениях, в том числе когнитивных, возникающих при старении и нейродегенеративных заболеваниях, обосновано применение лекарственных средств, обладающих ноотропным, антиоксидантным, антигипоксическим действием и оказывающих позитивное влияние на митохондриальную дисфункцию. Одним из таких препаратов является 2-этил-6-метил-3-оксипиридин сукцинат (мексидол). Показано, что у старых животных при длительном курсовом применении (2 курса по 2 мес.) мексидол восстанавливает когнитивные и моторно-неврологические дефициты и увеличивает продолжительность жизни [118, 119].

Ноотропное и нейропротекторное действие мексидола, в том числе при старении и нейродегенеративных заболеваниях, определяется его базисным политаргетным механизмом действия. Мексидол обладает противогипоксическим действием, способностью улучшать энергетический статус клетки и восстанавливать процессы в цикле Кребса [120, 121], подавлять аскорбатзависимое (неферментативное) и НАДФН₂-зависимое перекисное окисление липидов [80, 83, 122], повышать активность Se-зависимой глутатионпероксидазы, снижать активность индуцибельной NO-синтазы и связывать супероксидный анион-радикал, уменьшать глутаматную эксайтотоксичность [123]. Показана способность 2-этил-6-метил-3-оксипиридина увеличивать содержание фосфатидилсерина, фосфатидилинозита и сфингомиелина в синапсомембранных мембранах головного мозга [83, 124], что имеет существенное значение для процессов памяти, поскольку известно, что от повышения содержания фосфатидилсерина зависят активность Ca⁺⁺, K⁺-АТФ-азы, а повышение содержания фосфатидилинозита приводит к увеличению сродства ацетилхолинового рецептора к ацетилхолину. Таким образом, компонентами механизма реализации ноотропного действия мексидола следует считать его антиоксидантные и мембраномодулирующие эффекты, приводящие к структурно-функциональным изменениям в биомембране и к оптимизации функционирования ацетилхолиновых рецепторов, имеющих первостепенное значение для улучшения синаптической передачи и процессов памяти.

Недавно получены данные о способности мексидола индуцировать церебральный митохондриогенез и устранять митохондриальную дисфункцию как у молодых, так и у старых крыс [125]. Показано, что после курсового введения мексидола в коре головного мозга крыс наблюда-

ется дозозависимая индукция сукцинатного рецептора SUCNR1 и белков-маркеров биогенеза митохондрий: транскрипционного ко-активатора PGC-1 α , транскрипционных факторов (NRF1, TFAM), каталитических субъединиц дыхательных ферментов (NDUFV2, SDHA, cyt b, COX2) и АТФ-синтазы (ATP5A [125]. Активация сукцинатного рецептора вызывает эффекты, направленные на преодоление энергетического дисбаланса и вызывает активацию эритропоэза и ангиогенеза, стимуляцию сердечной деятельности и др. [126, 127]. Митохондриальный биогенез и сукцинатный рецептор рассматриваются в настоящее время как важные патогенетически обоснованные мишени в исследовании старения и нейродегенеративных заболеваний и поиска средств, обладающих нейропротекторным и ноотропным действием [128–131].

Таким образом, эффекты мексидола при когнитивных дисфункциях, в том числе возникающих при старении и нейродегенеративных заболеваниях, определяют оба фрагмента его структуры, каждая из которых оказывает влияние на ключевые патогенетические звенья процесса нейродегенерации: 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридин оказывает антиоксидантное и мембранопротекторное действие, а сукцинат, прежде всего, восстанавливает нарушения при митохондриальной дисфункции.

Применение мексидола оказалось эффективным при лечении когнитивных нарушений, моторно-двигательных расстройств, головокружения, астении, тревоги у пациентов старших возрастных групп с хронической церебральной патологией [132, 133], в том числе с дисциркуляторной энцефалопатией [134], а также у пациентов пожилого возраста с патологией сердечно-сосудистой системы и артериальной гипертензией [135, 136].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, группа ноотропных препаратов чрезвычайно разнообразна как по химическому строению, так и по спектрам фармакологических эффектов и механизмам действия. Различные ноотропы, кроме собственно ноотропного (влияние на обучение и память) действия, могут оказывать психостимулирующий, антиастенический, анксиолитический, адаптогенный эффекты, нейропротективное, антигипоксическое действие, способны улучшать мозговое кровообращение и оказывать некоторые другие эффекты.

На основании анализа имеющихся на настоящий момент данных о действии отдельных препаратов можно выделить следующие основные компоненты механизма реализации ноотропного эффекта: влияние на нейромедиаторные системы: холинергическую и глутаматергическую системы, а также ГАМК, дофаминергическую, адренергиче-

скую и серотонинергическую системы; повышение биоэнергетики головного мозга (активация аденилат циклазы, повышение синтеза АТФ и цАМФ); антиоксидантное действие (ингибирование образования свободных радикалов и перекисного окисления); мембраностабилизирующее действие: регуляция синтеза фосфолипидов и белков в нервных клетках, стабилизация структуры клеточных мембран; влияние на церебральный митохондриогенез и митохондриальную дисфункцию; активация пластических процессов в ЦНС (усиление синтеза РНК, ДНК и протеинов – улучшение образования информационных макромолекул; улучшение микроциркуляции (расширение мозговых сосудов, снижение агрегации тромбоцитов и др.); повышение устойчивости к дефициту кислорода, увеличение поступления глюкозы через мембраны нейронов и улучшение ее утилизации; влияние на ионные каналы (кальциевый, натриевый и др.); влияние на на хелаторы металлов; влияние на факторы роста нервов; влияние на моноклональные антитела, взаимодействующие с бета-амилоидом и tau белком и некоторые другие компоненты механизма.

Ноотропы препараты являются одними из наиболее широко применяемых препаратов, как в амбулаторной, так и клинической практике. Основными показаниями для применения ноотропов являются: деменции различного генеза: сосудистые, атрофические, постэнцефалитические, постинфекционные, нарушения памяти при старении, при инсультах, черепно-мозговых травмах, вегето-сосудистых дистониях. Ноотропы применяют при болезнях Альцгеймера и Паркинсона, рассеянном склерозе, у детей: при болезни Дауна, аутизме, синдроме дефицита внимания, олигофрении. Ноотропы используются в комплексной терапии при атеросклерозе и гипертонической болезни, при различных интоксикациях (лекарственные, алкоголизм, наркомании и другие), при коматозных состояниях различной этиологии, при опухолях мозга, нейроинфекциях, астении, неврозах, депрессии, шизофрении, эпилепсии и других заболеваниях. Ноотропы применяются здоровыми людьми для улучшения умственной работоспособности в периоды повышенных нагрузок.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках темы ЕГИСУ НИОКР №122020100281-9 Государственного задания, ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Захаров В.В., Яхно Н.Н. // Нарушения памяти. М.: ГэотарМед, 2003. 150 с.
- Дамулин И.В. // Болезнь Альцгеймера и сосудистая деменция. М.: Наука, 2002. 85 с.
- Taylor K. // The Fragile Brain: the Strange, Hopeful Science of Dementia. N.Y.: Oxford University Press, 2017. 320 p.
- Moustafa A.A. Alzheimer's Disease. N.Y.: Academic Press, 2021. 238 p.
- Захаров В.В., Ахутина Т.В. // Достижения в нейрорегеративной / Ред. Яхно Н.Н., Дамулин И.В. М.: Медицина, 1995. Ч. 1. С. 131–156.
- Захаров В.В. // Неврол. журн. 2006. № 11. С. 27–32.
- Локшина А.Б., Захаров В.В. // Неврол. журн. 2006. № 11. С. 57–64.
- Giurgea C. // Actual. Pharm. 1972. V. 25. P. 115–156.
- Giurgea C., Salama M. // Prog. Neuro-Psychopharmacol. 1977. V. 1. P. 235–247.
- Воронина Т.А. // Фармакология ноотропов / Ред. Вальдман А.В. М.: Медицина, 1989. С. 91–98.
- Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л. // Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России, 2012. Гл. 17. С. 276–296.
- Воронина Т.А., Середенин С.Б. // Экспер. и клин. фармакол. 1998. Т. 61. № 4. С. 3–6.
- Weisman R. // Smart Drugs and Nootropics / Ed. Kindle B. Berlin: Springer-Verlag, 2015. 141 p.
- Kumar K. Hari, Mitta Srija, Sandeep D.K., Ramisetty Davarika // J. Pharmaceutical Biology. 2016. V. 6. № 1. P. 14–19.
- Malik M., Tlustos P. // Nutrients. 2022. V. 14. № 336. P. 3–28.
- Voronina T.A. // Alzheimer Disease. Therapeutic Strategies / Ed. Jacobini E. Boston: Birkhauser, 1994. P. 265–269.
- Сычев Д.А., Герасимова К.В., Отделенов В.А. // Российский медицин. журн. 2011. № 15. P. 957–964.
- Wojszel Z.B. // Nootropics. NeuroPsychopharmacotherapy / Eds. Riederer P., Laux G., Nagatsu T., Le W., Riederer C. Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2020. P. 1–45.
- Malykh A.G., Sadaie M.R. // Drugs. 2010. V. 70. № 3. P. 287–312.
- Nickolson V.J., Wolthuis O.L. // Biochem. Pharmacol. 1976. V. 25. № 20. P. 2241–3344.
- Grau M., Montero J.L., Balasch J. // Gen. Pharmacol. 1987. V. 18. № 2. P. 205–211.
- Tacconi M.T., Wurtman R.J. // J. Neurol. 1986. № 43. P. 675–685.
- Horvath B., Marton Z., Halmosi R. // Clin. Neuropharmacol. 2002. V. 25. № 1. P. 37–42.
- Pepeu G., Spignoli G. // Prog. Neuropsychopharm. Biol. Psychiatry. 1989. № 13. P. 77–79.
- Pilch H., Muëller W.E. // Psychopharmacology (Berl.). 1988. V. 94. № 1. P. 74–78.
- Copani A., Genazzani A., Aleppo G. // J. Neurochem. 1992. V. 58. № 4. P. 1199–204.
- Pugsley T.A., Shih Y., Coughenour L. // Drug Dev. Res. 1983. № 3. P. 407–20.
- Берестовицкая В.М., Тюренков И.Н., Васильева О.С., Перфилова В.Н., Остроглядов Е.С., Багметова В.В. // Рецептамы: методы синтеза и биологическая активность. СПб.: Астерион, 2016. 287 с.
- Малых А.Г., Садаие М.Р. // Лекарственные средства. 2010. Т. 70. № 3. С. 287–312.
- Звейнивец Л., Свальбе Б., Вайнберг Г., Гринберга С., Ворона М., Калвиньш И., Дамброва М. // Базовая и клин. фармакол. и токсикол. 2011. Т. 109. № 5. С. 407–412.
- Бобков И.И., Морозов И.С., Глоzman О.М., Неробкова Л.Н., Жмуренко Л.А. // Бюл. экспер. биол. и мед. 1983. Т. 95. № 4. С. 50–53.
- Тюренков В., Багметов М.Н., Епишина В.В. // Экспер. и клин. фармакология. 2007. Т. 70. № 2. 24–29.
- Савченко А.И., Захарова Н.С., Степанов В. // Ж. неврол. и психиатр. им С.С. Корсакова. 2005. Т. 105. № 12. С. 22–26.
- Фирстова Ю.Ю., Абаимов Д.А., Капица И.Г., Воронина Т.А., Ковалев Г.И. // Нейрохимический ж. 2011. Т. 28. № 2. С. 130–141.
- Ковалев Г.И., Ахапкина В.И., Абаимов Д.А. // Нервные болезни. 2007. № 4. С. 22–26.
- Canty D.J., Zeisel S.H. // Nutr. Rev. 1994. V. 52. P. 327–339.
- Chung S.-Y.; Moriyama T., Uezu E., Uezu K., Hirata R., Yohena N., Masuda Y., Kokubu Y., Yamamoto S. // J. Nutr. 1995. V. 125. P. 1484–1489.
- Higgins J.P.T., Flicker L. // Cochrane Database Syst. Rev. 2003. V. 3. P. CD001015.
- Ladd S.L., Sommer S.A., LaBerge S., Toscano W. // Clin. Neuropharmacol. 1993. V. 16. P. 540–549.
- White H.L., Scates P.W. // Neurochem. Res. 1990. № 15. P. 597–601.
- Malanga G., Aguiar M.B., Martinez H.D., Puntarulo S. // Drug Metab. Lett. 2012. V. 6. P. 54–59.
- Blin O., Audebert C., Pitel S., Kaladjian A., Casse-Perrot C., Zaim M., Micallef J., Tisne-Versailles J., Sokoloff P., Chopin P. // Psychopharmacology. 2009. V. 207. P. 201–212.
- Levin E.D., Rose J.E., Abood L. // Pharmacol. Biochem. Behav. 1995. V. 51. P. 369–373.
- Wood P.L., Péloquin A. // Neuropharmacology. 1982. V. 21. P. 349–354.
- Singh A., Purohit V. // Ther. Perspect. 2019. V. 35. P. 278–282.
- Toledano A., Bentura M.L. // J. Neural Transm. Gen. Sect. 1994. № 7. P. 195–209.

47. *Martin K.J., Vyas S.* // Br. J. Pharmacol. 1987. V. 90. P. 561–565.
48. *Jiménez-Andrade G.Y., Reyes-García G., Sereno G., Ceballos-Reyes G., Vidal-Cantú G.C., Granados-Soto V.* // Eur. J. Pharmacol. 2008. V. 590. P. 170–176.
49. *Ковлер М.А., Авакумов В.М., Кругликова-Львова Р.П.* // Хим. Фарм. ж. 1980. № 9. С. 118–122.
50. *Воронина Т.А.* // Фармакол. Токсикол. 1991. Т. 54. № 2. С. 5–11.
51. *Воронина Т.А.* // Фундаментальные проблемы реаниматологии (избранные лекции и обзоры) / Ред. Мороз В.В. М.: Институт реаниматологии РАМН, 2005. С. 84–113.
52. *Воронина Т.А.* // Пантогам и пантогам актив. Клиническое применение и фундаментальные исследования / Ред. Копелевич В.М. М.: Триада-фарм, 2009. С. 11–30.
53. *Воронина Т.А., Литвинова С.А.* // Ж. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2017. Т. 117. № 8. С. 132–139.
54. *Ковалёв Г.И., Фирстова Ю.Ю., Абаимов Д.А., Старикова Н.А.* // Ж. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2012. Т. 112. № 3. С. 39–43.
55. *Ашмарин И.П., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Мясоєдов Н.Ф.* // Фарматека. 1997. Т. 4. № 97. С. 32–33.
56. *Ашмарин И.П., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Мясоєдов Н.Ф.* // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 1997. Т. 47. № 2. С. 419–425.
57. *Левицкая Н.Г., Каменский А.А.* // Нейрохимия. 2008. Т. 25. № 1. С. 111–118.
58. *Воронина Т.А., Яснецов В.В.* // Экспер. и клин. фармакол. 2010. № 4. С. 2–7.
59. *Романова Г.А., Фирова Ф.А.* // Бюл. экспер. биол. и мед. 2006. Т. 142. № 12. С. 618–620.
60. *Мельникова Е.В.* Многофакторная нейропротекция при острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения (клинико-экспериментальное исследование). Автореф. дис. ... докт. мед. наук. СПб., 2007. 44 с.
61. *Гусев Е.И., Скворцова В.И., Чуканова Е.И.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2005. Т. 105. № 6. С. 34–39.
62. *Иванова Н.Е.* Результаты // Эффективная фармакотерапия. 2012. № 2. С. 2–8.
63. *Фирова Ф.А.* Спектр нейропсихотропной активности оригинального замещенного пролилди-пептида ГВС-111 Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. Институт фармакологии РАМН, 1994, 23 с.
64. *Вахитова Ю.В., Садовников С.В., Борисевич С.С., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.* // Acta Naturae. 2016. Т. 8. № 1. С. 90–98.
65. *Островская Р.У., Мирзоев Т.Х., Фирова Ф.А., Трофимов С.С., Гудашева Т.А., Греченко Т.Н., Гутырчик Е.Ф., Баркова Е.Б.* // Экспер. и клин. фармакол. 2001. Т. 64. № 2. С. 11–14.
66. *Островская Р.У., Гудашева Т.А., Цаплина А.П., Вахитова Ю.В., Салимгареева М.Х., Ямиданов Р.С., Середенин С.Б.* // Бюл. эксп. биол. мед. 2008. Т. 146. № 9. С. 309–312.
67. *Giardino L., Giuliani A., Battaglia A., Carfagna N., Aloe L.* // Neuroscience. 2002. V. 109. P. 487–497.
68. *Caraci F., Chisar M., Frasca G., Canonico P.L., Battaglia A., Calafiore M., Battaglia G., Bosco P., Nicoletti F., Copani A.* // Brain Res. 2005. V. 1047. P. 30–37.
69. *Heitz C., Descombes J., Miller R.C., Stoclet J.* // Eur. J. Pharmacol. 1986. V. 123. P. 279–285.
70. *Tanaka M., Yoshida T., Okamoto K., Hirai. S.* // Neurosci. Lett. 1998. V. 248. P. 68–72.
71. *Molnár P., Erdo S.L.* // Eur. J. Pharmacol. 1995. № 273. P. 303–306.
72. *Erdő S.L., Molnár P., Lakics V., Bence J.Z., Tömösközi Z.* // Eur. J. Pharmacol. 1996. V. 314. P. 69–73.
73. *Chiu P., Tetzloff G., Ahn H., Sybertz E.J.* // Am. J. Hypertens. 1988. № 1. P. 262–268.
74. *Kriegelstein J., Rischke R.* // Eur. J. Pharmacol. 1991. № 205. P. 7–10.
75. *Patyar S., Prakash A., Modi M., Medhi B.* // Pharmacol. Rep. 2011. V. 63. P. 618–628.
76. *Willson C.* // Vinpocetine. In Reference Module in Bio-medical Sciences. Amsterdam: Elsevier, 2015. 235 p.
77. *Nagy Zs.* // Geriatrika, 1985. V. 1. № 8. P. 102–111.
78. *Воронина Т.А., Смирнов Л.Д., Тилекеева У.М., Дюмаев К.М.* // Бюл. экспер. биол. 1986. № 5. С. 513–516.
79. *Тилекеева У.М.* // Психотропные свойства производных 3-оксипиридина. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.: НИИ фармакологии РАМН, 1986. 25 С.
80. *Воронина Т.А.* // Фарматека. 2009. № 6. С. 28–31.
81. *Воронина Т.А.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2012. № 1. С. 86–90.
82. *Маркина Н.В.* // Фармакологическая коррекция поведенческих и электрофизиологических нарушений при депривации парадоксальной фазы сна у крыс. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: НИИ фармакологии РАМН, 1990. С. 32.
83. *Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д.* // Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС / М.: Ин-та биомед. химии РАМН, 1995. С. 271.
84. *Воронина Т.А., Крайнева В.А., Золотов Н.Н., Котельникова С.О., Вальдман Е.А.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2022. Т. 122. № 8. С. 65–71.
85. *Шишкова В.Н.* // Терапевтич. архив. 2014. № 11. С. 128–134.
86. *Остроумова О.Д., Черняева М.С.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2018. № 9. С. 117–125.
87. *Боголепова А.Н.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2020. № 8. С. 133–139.
88. *Дамулин И.В.* // Фарматека. 2011. № 19. С. 22–30.

89. *Кашин А.В.* // Бюл. экспер. биол. и мед. 2012. № 5. С. 34–36.
90. *Соколова Л.П.* // Методические рекомендации. Додементные когнитивные расстройства. Особенности нейрометаболизма и его коррекция / М.: Изд. ООО “АСТ 345”, 2016. 120 с.
91. *Соколова Л.П., Шмырев В.И.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2011. № 7. С. 80–83.
92. *Воробьева А.А., Васильев А.В.* // Рус. мед. журн. Неврология. 2009. Т. 17. № 6. С. 1–4.
93. *Катунина Е.А., Малыхина Е.А., Кузнецов Н.В., Авакян Г.Н., Гусев Е.И., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Барсков И.В.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова, 2006. № 9. С. 22–28.
94. *Катунина Е.А.* // Рус. Мед. журн. Неврология. 2010. Т. 18. № 6. С. 1–3.
95. *Гашилова Ф.Ф.* // Бюл. экспер. биол. и мед. 2006. приложение 1. С. 17–21.
96. *Гашилова Ф.Ф.* // Бюл. экспер. биол. и мед. 2012. Приложение 1. С. 18–22.
97. *Попова М.М., Орлова Е.В., Пащенко М.А., Бойко А.Н.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2011. № 8. С. 68–71.
98. *Головкин В.И.* // Бюл. экспер. биол. и мед. 2012. Приложение 1. С. 23–33.
99. *Harman D.* // Exp. Gerontol. 1998. V. 33. P. 95–112. *Обухова Л.К., Эмануэль Н.М.* // Успехи химии. 1983. № 52. С. 353–372.
100. *Anisimov V.N., Zavarz Utaf J.Y., Zabezhinski M.A.* // J. Gerontol. Biol. Sci. 2001. V. 56A. P. 311–323.
101. *Zs-Nagy I., Harmon D., Kttani K.* // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1994. V. 717. P. 72–77.
102. *Газиев А.И., Ушакова Т.Е., Подлуцкий А.Я.* // Успехи геронтол. 1997. Т. 1. С. 80–84.
103. *Reiter R.J., Tan D.X., Allegra M.* // Neuroendocr. Lett. 2002. V. 23. Suppl. 1. P. 3–8.
104. *Анисимов В.Н.* // Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб.: Наука, 2003. 468 с.
105. *Гомазков О.А.* // Успехи соврем. биологии. 2012. Т. 132. № 2. С. 141–154.
106. *Гомазков О.А.* // Старение мозга и нейротрофическая терапия. М.: ИКАР, 2011. 180 с.
107. *Skulachev V.P.* // Exp. Gerontol. 2001. V. 36. P. 995–1024.
108. *Ziing Y., Herman B.* // Mech. Ageing Dev. 2002. V. 123. P. 245–260.
109. *Papa S., Skukichev V.P.* // Molec. Cell. Biochem. 1997. V. 174. P. 305–319.
110. *Harman D.* // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1994. V. 717. P. 257–266.
111. *Эмануэль Н.М.* // Изв. АН СССР. Сер. Биол. 1975. № 4. С. 785–794.
112. *Колтовер В.К.* // Успехи геронтологии, 2000. № 4. С. 33–40.
113. *Cutler R.* // Age. 1995. V. 18. P. 91–96.
114. *Salvoti S., Bonafe M., Capri M.* // FEBS Lett. 2001. V. 492. P. 9–13.
115. *James A.M., Murphy M.P.* // J. Biomed. Svi. 2002. № 9. P. 475–487.
116. *Troen A.R.* // The Maunt. Sinai J. Med. 2003. № 70. P. 3–22.
117. *James A.M., Murphy M.P.* // J. Biomed. Svi. 2002. № 9. P. 475–487.
118. *Воронина Т.А., Кутепова О.А.* // Журн. высш. нервн. деят. 1988. Т. 38. № 6. С. 1126–1131.
119. *Воронина Т.А.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2020. Т. 120. № 4. С. 81–87.
120. *Лукьянова Л.Д.* // Патол. физиол. и экспер. терапия. 2011. № 1. С. 2–18.
121. *Лукьянова Л.Д.* // Сигнальные механизмы гипоксии. 2019. М.: Наука, 2019. 214 с.
122. *Бурлакова Е.Б., Кайране Ч.Б., Молочкина Е.М., Хохлов А.П.* // Вопросы мед. химии 1984. № 1. С. 66–72.
123. *Шулькин А.В.* // Ж. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2012. Т. 112. № 2. Р. 35–39.
124. *Еременко А.В.* // Роль мембранотропных свойств производных 3-оксипиридина в фармакологическом эффекте. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1986. 22 с.
125. *Кирова Ю.И., Шакова Ф.М., Германова Э.Л., Романова Г.А., Воронина Т.А.* // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. 2020. Т. 120. № 1. С. 62–69.
126. *Bratic A., Larsson N.-G.* // J. Clin. Invest. 2013. V. 123. № 3. P. 951–957.
127. *Hamel D., Sanchez M., Duhamel F., Roy O., Honore J.-C., Noueihed B., Zhou T., Nadeau-Vallee M., Hou X., Lavoie J.-C., Mitchell G., Mamer O.A., Chemtob S.* // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2014. № 34. P. 285–293.
128. *Farshbaf J.M., Kiani-Esfahani A.* // Mitochondrion. 2018. № 42. P. 77–83.
129. *Uittenbogaard M., Chiaramello A.* // Curr. Pharm. Des. 2014. V. 20. № 35. P. 5574–5593.
130. *Ariza A.C., Deen M.P.T., Robben J.H.* // Front. Endocrinol. 2012. № 3. P. 1–8.
131. *Новиков В.Е., Левченкова О.С., Иванцова Е.Н.* // Вестник Смоленской гос. Мед. академии. 2020. Т. 19. № 1. С. 5–12.
132. *Дума С.Н.* // Терапев. архив. 2013. № 12. С. 100–105.
133. *Дума С.Н.* // Неврол. нейропсихиат., психосомат. 2018. Т. 10. № 1. С. 55–59.
134. *Рубина С.С.* // Бюл. экспер. биол. и мед. 2012. приложение 1. С. 46–51.
135. *Одинцова Н.Ф.* // Фарматека. 2006. № 20. С. 79–85.
136. *Мартемьянова Е.Г.* // Кардиоваскуляр. терап. и профилак. 2018. Т. 17. № 2. С. 51–56.

Cognitive Impairment and Nootropic Drugs: Mechanism of Action and Spectrum of Effects

T. A. Voronina

Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

The review provides information about the features of cognitive dysfunctions that occur in various diseases and conditions, and data on the history of the creation and characteristic features of nootropics. The review presents the mechanisms of action and the spectrum of pharmacological effects of nootropic drugs from various groups: drugs that affect brain metabolism, neurotransmitter systems (cholinergic, glutamatergic, gabaergic and others), cerebral vasodilators, neuropeptides and their analogues, antioxidants, membrane protectors and others. The free radical and mitochondrial concepts of aging and the possibility of using nootropics for the correction of cognitive impairments arising from aging, dementia and other neurodegenerative diseases are considered.

Keywords: nootropics, memory, dementia, Alzheimer's disease, autism, Parkinson's disease, aging, piracetam and analogues, cholinergic agents, antioxidants, mexidol, vasodilators

УДК 612.821.3, 612.822.1

ИРИЗИН НА ПЕРЕКРЕСТКЕ МЕХАНИЗМОВ АУТОФАГИИ И СИГНАЛИНГА BDNF В РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

© 2023 г. Э. А. Андриянова^{1, *}, Т. А. Воронина²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение “Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью” Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова, Москва, Россия

Поступила в редакцию 22.11.2022 г.

После доработки 20.12.2022 г.

Принята к публикации 21.12.2022 г.

Нейропластичность — неотъемлемое качество как развивающегося мозга, так и мозга, способного к поддержанию функционального гомеостаза и осуществлению адаптивных изменений в норме и при компенсации патологии. Обеспечение механизмов нейропластичности — одна из целей терапевтического воздействия при лечении нейродегенеративных и ассоциированных со стрессом заболеваний. Прогресс в понимании механизмов взаимодействия мышечной системы и мозга указывает на роль миокина иризина в опосредовании прокогнитивной и антидепрессантной активности физических упражнений. Иризин, который высвобождается при активности миоцитов на периферии, может проникать через гематоэнцефалический барьер и, как предполагается, стимулирует клеточную аутофагию. Опосредуемая аутофагией активация рециклинга белков и макромолекул способствует адаптивной структурной перестройке синаптических контактов, а высвобождение протеаз, в том числе и матриксной металлопротеиназы 9, определяет переформатирование межклеточного матрикса, созревание мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и положительную регуляцию сигналинга BDNF. Недавние результаты дают основания рассматривать факторы, стимулирующие аутофагию, как предпосылки успешной терапии неврологических, психических расстройств и возрастной деменции. Поэтому иризин, как ее физиологический регулятор, выступает в качестве молекулы-прототипа для создания новых терапевтических средств для коррекции нейродегенеративных состояний и ассоциированных со стрессом нарушений работы мозга.

Ключевые слова: нейропластичность, BDNF, аутофагия, иризин

DOI: 10.31857/S1027813323020036, EDN: UCLC1M

АКТУАЛЬНОСТЬ ИЗУЧЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАК РЕГУЛЯТОРА НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

Нейропластичность — одна из фундаментальных особенностей нервной ткани, проявляющаяся в способности нейронов к образованию, поддержанию и обновлению физических и функциональных связей в соответствии с актуальными потребностями организма [1–3]. Нейропластичность — это не только механизм развития и адаптации мозга у нормальных индивидуумов. Нейропластичность признана как причиной, так и сопутствующим признаком успешного лечения нейропсихиатрических заболеваний. Так, терапевтический механизм действия антидепрессантов включает модуляцию и индукцию нейропластических изменений, включая синаптогенез [4].

Среди комплексных системных физиологических факторов, которые могут влиять на нейропластичность, физическая активность (ФА) привлекает особое внимание [5–8]. ФА рассматривается в качестве дополнительного или даже самостоятельного средства терапии психических заболеваний (депрессивных расстройств, возрастной деменции и синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ)) из-за значимого антидепрессивного и прокогнитивного эффектов, а также своей доступности и безопасности. Однако, несмотря на интерес и проводимые исследования, механизмы, определяющие эффект ФА в отношении нейропластичности, до сих пор полностью не выявлены. Лучшее понимание роли молекулярных мишеней ФА в осуществлении антидепрессивного и прокогнитивного эффектов способствовало бы поиску физиологически релевантной и эффективной фармакологической или генетической терапии син-

* Адресат для корреспонденции: 119121, Москва ул. Погодинская, д. 10; EAndershanova@cspfmba.ru.

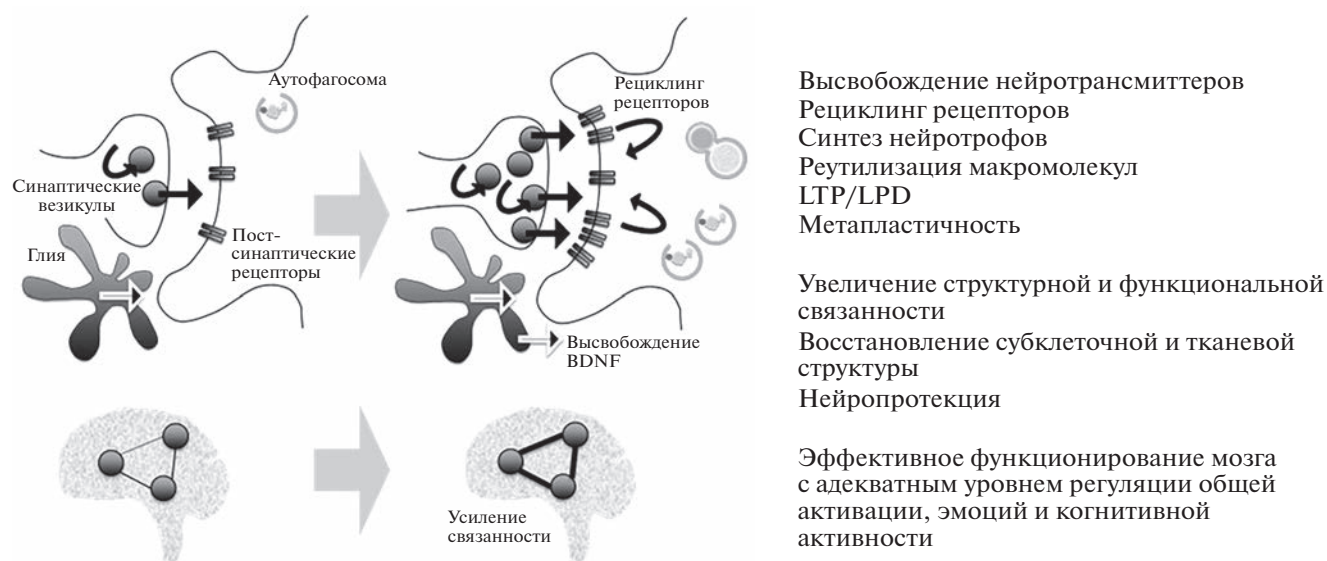


Рис. 1. Основные изменения на клеточном и системном уровнях, характеризующие нейропластичность.

дромов снижения когнитивных и дисрегуляции аффективных функций.

Характеристическим признаком ФА является высвобождение миокинов, в том числе и иризина [9], который способствует адаптации тканей к возросшей физической нагрузке. Одним из молекулярных эффектов ФА является усиление клеточной аутофагии как в периферических органах и тканях, так и в головном мозге [10]. Фундаментальная функция аутофагии, заключающаяся, в основном, в реутилизации макромолекул, используется как инструмент реорганизации субклеточной структуры, что, в свою очередь, на уровне нервной ткани, необходимо для осуществления нейропластичности и синаптогенеза [11]. В настоящей статье мы хотели бы обсудить механизмы, стоящие за положительными эффектами активации мышечно-мозговой оси во время осуществления ФА, предполагая, что иризинный сигналинг является важным компонентом, связывающим аутофагию и нейропластичность.

ЯВЛЕНИЕ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

Нейропластичность — это способность нейрональной ткани к функционально значимым структурным и морфологическим изменениям в ответ на различного рода внешние и эндогенные стимулы [1–3]. По сути, механизмы нейропластичности обеспечивают модулирование связи между нейронами, определяющей на макроуровне структурную и функциональную связность в мозге (рис. 1). Нейропластичность необходима для всех форм развития и обучения, поэтому, в целом, ее высокий уровень является приспособительной особенностью мозга [12, 13]. В свою очередь, при большинстве

нервно-психических расстройств часто наблюдается снижение нейропластичности и синаптогенеза, особенно в регионах переднего мозга [14–16].

Молекулярный автограф нейропластичности включает изменения в экспрессии генов, посттрансляционную модификацию белков, изменения в синтезе, активности и трафике мембранных рецепторов и белков, участвующих в передаче сигнала, увеличение синтеза нейротрофических факторов [17–20]. На уровне одиночного синапса явление нейропластичности обычно рассматривают как долгосрочную потенцию (LTP) или депрессию (LTD) нейрональной электрофизиологической активности.

Нейропластичность и онтогенетически связанное с ней явление более высокого порядка, гомеостатическая и негомеостатическая метапластичность (зависящая от нового уровня организации пластичность) — это не только механизм развития и адаптации мозга у нормальных индивидуумов. Повышение нейропластичности рассматривается как показатель успешной терапии различных психических расстройств. Активация нейропластических механизмов при успешном лечении, по-видимому, определяет формирование такого нейробиологического и нейрохимического контекста в мозговой ткани, который имеет важное значение для предотвращения, рецидивации, дальнейшего развития или даже реконвалесценции психических заболеваний [21, 22]. На системном уровне усиление или поддержание нейропластичности связано с улучшением когнитивных функций и нисходящим контролем эмоций [23, 24]. Так, индукция нейропластических изменений, включая синаптогенез, обуславливает механизм терапевтического действия антидепресс-

сантов [4]. Следует отметить, что в определенном нейробиологическом контексте, например, при формировании негативной памяти при психологической травме или развитии лекарственной зависимости, усиление нейропластичности является дезадаптивным [25, 26]. Также, хронический стресс и депрессия ассоциированы с усилением нейропластичности в базальных ганглиях [27, 28].

В отношении пронеуропластической активности антидепрессантов следует упомянуть сигналинги основного нейротрофина мозговой ткани, brain derived neurotrophic factor (BDNF) [4, 29]. BDNF — широко экспрессирующийся в нервной системе секретируемый белок [30, 31]. Опосредуемые BDNF молекулярные эффекты включают контроль процессов транскрипции, трансляции и трафика белков в нейронах [32], регуляцию дифференцировки [33], контроля жизнеспособности нейронов, роста аксонов, нейрональной перестройки (remodeling) [34–38] и синаптической кластеризации [39], что определяет его ведущую роль в механизмах нейропластичности. Определение BDNF в плазме служит биомаркером депрессивных расстройств, поскольку наблюдается ассоциация между уровнями BDNF в плазме и тяжестью течения заболевания [40, 41]. В свою очередь, повышение содержания BDNF в плазме положительно соотносится с фактической эффективностью антидепрессантов и других видов антидепрессантной терапии, включая кетамин [42–49].

Изменения в силе связи между нейронами обычно подразумевает как создание новых синапсов или их элиминацию, так и изменение эффективности имеющихся синаптических контактов, не сопровождающееся морфологической перестройкой [50]. В любом случае, как ультраструктурные изменения, так и синаптогенез *de novo*, поддерживаются реорганизацией клеточной среды [51, 52]. Таким образом, нейропластичность подразумевает тонкий баланс ана- и катапластичности, который требует не только синтеза белка, но и утилизации и/или повторного использования макромолекул [53–55].

АУТОФАГИЯ – ОСНОВНОЙ МЕХАНИЗМ КЛЕТОЧНОГО ГОМЕОСТАЗА

Аутофагия (*αὐτοφάγος*, гр. “самопоедание”) — один из фундаментальных механизмов клеточного гомеостаза, который играет важную роль в поддержании жизнеспособности клетки в условиях метаболического голодания [56, 57]. Аутофагия — универсальная эволюционно устойчивая клеточная функция, которая наблюдается у биологических объектов любого уровня сложности, начиная от простейших [58–60]. Основной задачей аутофагии является поддержание баланса между уровнем синтеза и деградации белковых молекул в цитоплазме, то есть сохранение белкового гомеостаза

(proteostasis) [54, 61–63]. Аутофагия обеспечивает динамический процесс контролируемой деградации белков и органелл с участием лизосом, поддерживая их качество и регулируя их количество в зависимости от метаболической нагрузки на клетку.

Существует три типа аутофагии: макроаутофагия, микроаутофагия (при котором часть цитоплазматических элементов захватывается лизосомами напрямую [64]) и шаперон-опосредованная аутофагия [65]. Обычно термин аутофагия относится к макроаутофагии [66, 67]. Аутофагия также координируется с другими системами везикулярного и молекулярного транспорта в клетке и с такими фундаментальными механизмами, как апоптоз, часто являясь функциональным антагонистом последнего [68].

Аутофагия — многоэтапный процесс (рис. 2). Поток аутофагии подразумевает образование проаутофагосом, секвестрацию цитоплазматического материала (груз аутофагосом) в двухмембранные аутофагосомы, их слияние с лизосомами или поздними эндосомами и деградацию карго в процессе энзиматического протеолиза [69]. Последнее подтверждается фактом деградации эквистосомы-1, также известной как убиквитин-связывающий белок p62 [70]. Карго-специфичность обеспечивается рецепторами, которые распознают специфические мишени для деградации, а также LC3, белком, который закреплен внутри аутофагосомной мембраны [71]. Аутофагосомы пристыкуются к клеточным мембранам с последующей деструкцией и высвобождением карго во внеклеточное пространство. При осуществлении последних шагов возможно такое развитие сценария, при котором не происходит инфузии аутофагосомы с лизосомой и содержимое аутофагосомы эвакуируется во внеклеточное пространство. Этот процесс скорее всего определяется на ранних этапах аутофагии, когда происходит маркирование белков-карго адаптерными белками. При осуществлении такого сценария аутофагия вовлекается в процесс высвобождения белков и пептидов [72], таким образом, обеспечивая секреторную активность клетки [73].

Аутофагия регулируется множеством эволюционно консервативных генов, связанных с аутофагией (atg), и соответствующих регуляторных белков, например, ULK1 (гомолог ATG1 у дрожжей) и Beclin1 (гомолог ATG6 у дрожжей) [71, 74]. Эти белки действуют на самых ранних стадиях образования проаутофагосом, и их ингибирование предотвращает зависимый от макроаутофагии поток аутофагии в клетке. Аутофагия также может контролироваться многими восходящими сигналами в нейронах. Молекулярно-биологические исследования, ставящие целью обнаружение значимых регуляторов аутофагии и их связь с внешним физиологически релевантными стиму-

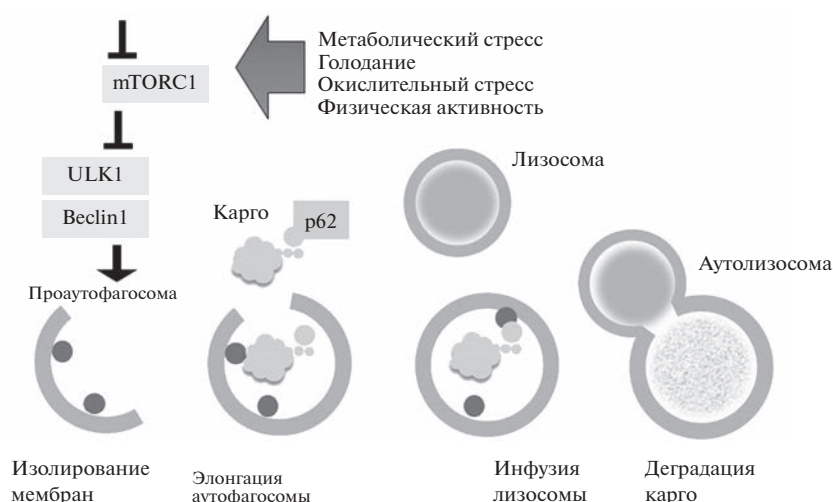


Рис. 2. Этапы макроаутофагии. ULK1 – Unc-51-подобная активирующая аутофагию киназа; ортолог белка дрожжей ATG1 (Unc-51 like autophagy activating kinase); Beclin 1 – белка, необходимого для инициации образования аутофагосом, ортолог белка дрожжей ATG6; mTORC1 – киназа mammalian target of rapamycin complex 1; p62, LC3 – адаптерные протеины аутофагосом.

лами, такими как психофизиологический стресс – динамично развивающаяся область. Ключевым элементом в регуляции уровня аутофагии в клетке является комплекс 1 мишени рапамицина млекопитающих (mTORC1) [75–78]. Поскольку mTORC1 находится в клетке под влиянием большого числа вторичных мессенджерных систем (внутриклеточных сигнальных путей инсулина, моноаминов и BDNF, а также, глюкокортикоидных рецепторов), то существует обширный спектр факторов, потенциально обладающих регулирующей аутофагию активностью.

Суммируя, аутофагия представляется фундаментальным свойством клетки, обеспечивающим структурную реорганизацию и адаптацию к изменяющимся условиям.

АУТОФАГИЯ КАК МЕХАНИЗМ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ

Появляется все больше данных о вовлеченности аутофагии в механизм нейропластичности. Активация аутофагии критична для поддержания роста нейритов, нейрональной дифференцировки и синаптической пластичности как на пресинаптическом, так и на постсинаптическом уровнях [55, 79–85].

Так, нарушение опосредованной глутаматом и гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) LTP в неокортексе и гиппокампе было продемонстрировано у мышей с дефицитом Beclin1, белка, необходимого для инициации образования аутофагосом. Такие изменения синаптической передачи могут быть связаны с нарушением трафика и реутилизации рецепторов ГАМК и α -амино-3-гид-

рокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA) из-за уменьшения потока аутофагии [86]. Снижение LTD в пирамидных нейронах *Cornu Ammonis 1* (CA1 области гиппокампа) наблюдалось при фармакологическом ингибировании образования аутофагосом или в условиях посттрансляционного подавления экспрессии atg5 [87]. В добавление, аутофагия может контролировать везикулярное высвобождение нейротрансмиттеров: активация аутофагии у мышей atg7-КО приводит к увеличению высвобождения дофамина из срезов дорсального полосатого тела [88]. Этот эффект может быть опосредован адаптерными белками gab26, экспрессируемыми на синаптических везикулах [89].

Хорошо документирована тесная взаимосвязь системы BDNF/тирозинкиназный рецептор B (TrkB) и аутофагии. Активация аутофагии может вызывать изменения в экспрессии BDNF из-за одновременной потребности во внутриклеточной реорганизации [90]. По сравнению с мышами дикого типа, у трансгенных мышей с дефицитом аутофагии в микроглии, обнаруживается сниженная экспрессия BDNF в головном мозге. В свою очередь, увеличение экспрессии BDNF у животных приводит к опосредованному TrkB повышению активности mTORC1 [91] (Kim and Guan, 2015). Зависимая от BDNF активация аутофагии в эксперименте с первичной культурой гиппокампальных клеток оказывала нейропротекторное действие, которое было независимо от активности mTORC1 [92].

Еще одна линия доказательств вовлечения BDNF и аутофагии в процессы нейропластичности основывается на роли аутофагии в механизме действия антидепрессантов [93, 94], активность кото-

рых, в свою очередь, доказано зависит от BDNF [40]. Опосредованный аутофагосомами внутриклеточный транспорт белков вовлекается в транслокацию BDNF/TrkB комплекса в ядро и таким образом определяет нейропротекторный и нейропластический эффект нейротрофина [95]. Дополнительные механизмы нейропластичности, регулируемой аутофагией, включают регуляцию внеклеточных уровней BDNF [96, 97] за счет контроля секреции MMP9 с вовлечением механизма “секреторной аутофагии”) [98]. Аутофагия напрямую определяет эффективность обратного захвата BDNF в нейроны [95] и может участвовать в регуляции экспрессии BDNF в микроглии [99]. Терапевтическая активность пароксетина в модели послеродовой депрессии сопровождалась усилением аутофагии и конкомитантным увеличением экспрессии BDNF что зависело от экспрессии ATG5 в микроглиальных клетках [99]. Электроконвульсивная терапия, которая у людей имеет антидепрессивное действие, у крыс приводила к увеличению интенсивности аутофагии, экспрессии BDNF, а также к увеличению числа моховидных волокон (mossy fibers) в гиппокампе [100]. Тип аутофагии и временное окно ее вовлечения могут быть критическими факторами, определяющими исход ее активации. Как было показано на модели стрептозоциновой токсичности у мышей, уменьшенный уровень аутофагии и, соответственно, уменьшение катаболических процессов, обеспечивали положительный протеиновый гомеостаз и таким образом препятствовало нейродегенеративным процессам [101].

В свою очередь, нарушение процессов аутофагии ассоциировано с патогенезом нейродегенеративных заболеваний [102]. Из-за тесного взаимодействия между аутофагией и нейропластичностью неудивительно, что изменения в аутофагии расцениваются как патогенетический механизм неврологических (в первую очередь нейродегенеративных) и некоторых психических расстройств [103–105].

Суммируя, можно заключить, что накопленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что аутофагия, благодаря своей способности регулировать эффективную концентрацию функционально активных белков внутри или вне клетки, эффективно модулирует нейропластичность нейронов.

РЕГУЛЯЦИЯ АУТОФАГИИ И НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ КАК ЦЕЛЬ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ПСИХИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ

Активация аутофагии все больше признается как цель терапевтического воздействия агентов с

предполагаемым прокогнитивным эффектом [106]. Известны два мощных положительных физиологических регулятора аутофагии, физическая активность (ФА) и низкокалорийная диета [107–111]. Вызванная физической нагрузкой активация аутофагии включает увеличение экспрессии регуляторов аутофагии и усиление потока аутофагии. Примечательно, что увеличение аутофагии при ФА не является специфичным для периферии и может наблюдаться также в тканях головного мозга [10]. Поэтому вполне вероятно, что усиление процессов аутофагии в центральной нервной системе в условиях ограничения потребляемых калорий и регулярной физической нагрузки напрямую определяет улучшение работы мозга у животных и людей [112–119].

Результаты клинических наблюдений позволяют предположить, что ФА вызывает значительную функциональную и нейроанатомическую пластичность в зрелом мозге, выражающуюся в нейрогенезе, синаптической пластичности и морфологическом ремоделировании дендритов [120–124]. Экспериментальные исследования на мышах показали, что ФА вызывает специфическое увеличение объема структур и кровотока в гиппокампе [125–127] и в коре головного мозга [128]. Специфический для гиппокампа эффект может проявляться именно как следствие умеренной и высокой мышечной активности (уровень которой подтвержден результатами 7-дневной акселерометрии), а не кардиореспираторной адаптации [129]. Нейропластичность гиппокампа является важным фактором модуляции памяти, пространственной навигации и ситуационной тревожности, что делает эту область мозга одной из наиболее важных структур, участвующих в реакции на изменения окружающей среды и в адаптивном изменении мозговых функций [130, 131]. Многочисленные исследования связывают благотворное влияние ФА с повышением синтеза BDNF [132–136], а также с повышением его сигнальной активности в головном мозге [137–139]. В дополнение к изменению синаптической передачи ФА может индуцировать нейропластичность, воздействуя на вспомогательные функции, такие как противовоспалительная поляризация глии и ангиогенез [140, 141]. ФА с интенсивностью от 40 до 75% от максимальной благотворно влияет на память, когнитивные функции и обладает нейропротективным действием [142–145]. Поскольку механизмы положительных эффектов ФА обнаруживают аналогию с механизмами терапевтической активности антидепрессантов [146], неудивительно, что ФА оказывает положительное терапевтическое действие при коррекции аффективных нарушений [147, 148].

Однако, поскольку эффективность ФА довольно умеренна, ФА в основном предлагается в качестве дополнительного терапевтического средства [149]. В то же время, ФА можно рассматривать как

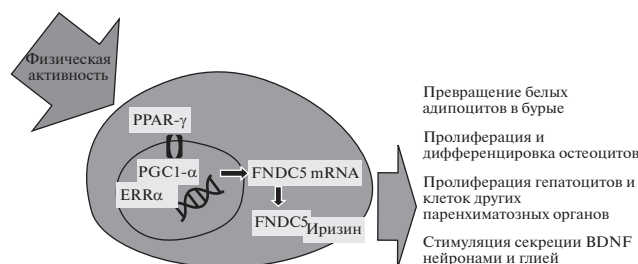


Рис. 3. Регуляция синтеза иризина и его физиологически эффекты. PPAR- γ – peroxisome proliferator-activated receptor gamma; γ /ERR α – gamma coactivator 1-alpha – estrogen-related receptor alpha; FNDC5 – fibronectin type III domain-containing protein 5.

экспериментальную парадигму для изучения связи между аутофагией и нейропластичностью в контексте поиска прокогнитивной терапии и антидепрессантной терапии [150]. Воздействие ФА на головной мозг также может быть напрямую связано с повышением эндокринной активности таких органов и тканей как печень, сердце, жировая ткань, а также активацией мышц. Полипептиды миокины (катепсин В, IL-6, декорин, BDNF и иризин), которые высвобождаются из миоцитов при их сократительной активности и опосредуют многие изменения во всем организме, включая мозг [9, 151]. Представляется перспективным изучение молекулярных мишеней иризина в мозге для оценки механизмов взаимосвязи аутофагии и нейропластичности.

ИРИЗИН, ЕГО МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ И НЕЙРО-СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Миокин иризин высвобождается путем расщепления мембранного белка 5, содержащего домен фибронектина типа III (FNDC5). Экспрессия FNDC5/иризина наблюдается во всех тканях, включая мозг [152] и регулируется ко-активатором γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом 1 α (PGC1-1 α) [153]. В свою очередь, экспрессия PGC-1 α , который первоначально был открыт как коактиватор митохондриального биогенеза [154], регулируется специфической активностью миоцитов в скелетных мышцах (рис. 3).

Первоначально иризин привлек внимание своей паракринной функцией, приводящей к трансформации белых адипоцитов в бурые [155, 156]. Бурые адипоциты лучше справляются с метаболическими задачами, обеспечивая более эффективный катаболизм углеводов во время физической активности [151, 157, 158]. Иризин обнаруживается в центральной циркуляции человека [6]. Эндокринные эффекты иризина обеспечивают относительно медленные изменения в организме и синхронизацию пластических изменений в печени, поджелудочной железе, кишечнике и почках, поддерживая запрос на более высокую метаболи-

ческую и дезинтоксикационную функцию в ответ на физическую нагрузку.

Недавние исследования с использованием определения иризина в плазме методом жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (LC-MS) [159] либо вестерн-блоттинга (WB) [160] подтвердили положительную корреляцию между повышением уровня физической активности и циркулирующим иризином в организме человека [159, 161–164]. Доклинические исследования дополнительно удостоверяют зависимость уровня иризина в плазме от физической активности у здоровых крыс [165]. Постоянные физические упражнения, выполняемые в виде ежедневного плавания, восстанавливают нарушенные уровни FNDC5/иризина в крови на животных в моделях болезни Альцгеймера [153]. Однако до сих пор существуют опасения [166] относительно надежности иризина как индикатора и/или медиатора эффектов ФА из-за сообщений о снижении уровня иризина в плазме у человека после долговременных тренировок. Так, в то время как однократное увеличение ФА приводило к повышению уровня иризина в плазме, 12-недельная тренировка была связана с его снижением [167].

Представляется возможным, что иризин участвует реализации механической связи между повышением ФА и изменениями в нейронах. Влияние экзогенного иризина [168] или эффекты делеции гена иризина [169] на поведение животных указывает на то, что он обеспечивает функционально значимую передачу сигналов в головном мозге. Однако нельзя исключить, что действие иризина, по аналогии с его периферическим действием, вовлекает адаптивную перестройку липидного обмена и антиоксидантных систем в нейронах и глии [170]. Так, уменьшение синтеза иризина при использовании siRNA сопровождалась снижением уровня UCP2 (несвязанный белок 2, служащий переносчиком внутренней митохондриальной мембраны) в кардиомиоцитах [171], что указывает на влияние иризина на интенсивность синтеза активных форм кислорода.

Иризин является гликозилированным белком, поэтому может проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [169, 172] и вносить вклад в пул иризина в головном мозге/ликворе [173, 174]. Однако нейрональная ткань сама по себе является источником иризина. В мозге мышей экспрессия FNDC5/иризина наиболее высока в областях, связанных с регулицией локомоторной активности. FNDC5/ирисин также обнаруживается в обонятельных луковицах, вентральном таламусе, медиальном вестибулярном ядре и области CA1 гиппокампа [152, 175].

Факторы, влияющие на содержание свободного иризина мозгового происхождения мало изучены, хотя известно, что средовые факторы влияют на его

экспрессию в мозге. Антидепрессивный эффект ФА сопровождался увеличением пролиферации, дифференцировки и выживаемости нейронов и был связан с увеличением количества FNDC5-позитивных клеток в гиппокампе [176]. Негативные изменения в поведении животных после хронического непредсказуемого стресса коррелировали со снижением экспрессии FNDC5/иризина в головном мозге. Помимо участия глюкокортикоидных рецепторов [177], уровни FNDC5/иризина регулируются BDNF за счет активации отрицательной обратной связи [178]. Интересно, что уровни иризина в спинномозговой жидкости и плазме независимо друг от друга коррелируют с возрастом, с болезнью Альцгеймера и ожирением [153, 174, 179]. Эти данные подтверждают, что экспрессия FNDC5/иризина в головном мозге и периферических органах регулируется отдельно и периферический и центральный пулы иризина можно рассматривать как независимые.

Экспрессия FNDC5/иризина в нервной ткани необходима для поддержания нормального нейrogenеза в гиппокампе. В условиях деплеции гена *fnDC5* аномально транскрибируются гены, связанные с дифференцировкой стволовых клеток и нейронов, нейротрофическими и инсулиновыми сигнальными путями, развитием дендритов, а также ассоциированные с нейродегенеративными нарушениями [169]. Пост-трансляционное уменьшение экспрессии FNDC5/иризина также влияет на нейрональные функции. Подавление синтеза иризина с помощью shPHK приводило к уменьшению возбуждающих пост-синаптических потенциалов *in vitro* и снижению памяти у мышей [180].

Микроинъекция иризина в зубчатую извилину гиппокампа крыс Вистар вызывала LTP и способствовала перекисному окислению липидов. Внутривенное введение иризина крысам со спонтанной гипертензией (SHR), модели СДВГ [181], приводило к нормализации артериального давления, соответствующее изменению экспрессии белков в паравентрикулярном ядре [182]. Билатеральное внутригиппокампальное введение иризина уменьшало негативные последствия иммобилизационного стресса у мышей в гендерно-специфичной манере, уменьшая уровень тревоги и ухудшение памяти у самок [183]. Сверхэкспрессия иризина в гиппокампе (локальная инъекция AAV8-irisin-FLAG) приводила к усилению контекстной памяти в парадигме павловского кондиционирования страха [169]. Wang и Pan показали, что подкожное введение иризина сопровождалось дозозависимым антидепрессантным действием в модели хронического непредсказуемого стресса [184]. Подкожное введение иризина приводило к увеличению сложности дендритного дерева в CA1 и CA3 областях гиппокампа, что совпадало с активацией mPHK для PGC-1 α , FNDC5 и BDNF, таким образом, поддерживая идею о нейротрофическом меха-

низме действия иризина [185]. Исследование, проведенное группой Boström предоставило доказательство влияния ФА на зависимую от PGC-1 α /FNDC5 экспрессию BDNF как в периферических органах, так и в гиппокампе [178]. Следует отметить, что селективное увеличение активности в системе FNDC5–BDNF на периферии практически не влияет на BDNF иммунореактивность в головном мозге, поскольку в нормальных физиологических условиях BDNF практически не проникает через гематоэнцефалический барьер [186].

Экзогенный иризин показал нейропротекторный эффект на моделях нейродегенеративных заболеваний [153, 187]. Местное введение рекомбинантного иризина, а также экспрессия FNDC5-содержащего аденовирусного вектора у мышей, получавших A β O, восстанавливали память на мышинной модели болезни Альцгеймера. Оба положительных эффекта соответствовали нормализации возбуждающих постсинаптических потенциалов у мышей [153]. В элегантном эксперименте, при котором увеличение периферического пула иризина достигали при помощи векторной сверхэкспрессии FNDC5/иризина в печени, наблюдали улучшение когнитивных способностей мышей в двух трансгенных моделях болезни Альцгеймера (APP/PS1 и 5x3AD), что также сопровождалось снижением активации глиии [169].

Результаты экспериментов *in vitro* показали, что активность иризина в мозге может быть опосредована глиальными клетками [153, 184]. Открытие рецепторов, специфичных для иризина, принадлежащих к семейству интегринов, α 1 β 1 и особенно α v β 5 [188], указало на участие астроцитов, поскольку известно, что эти клетки экспрессируют α v β 5 [189]. Еще одним свидетельством в пользу вовлечения глиии в реализацию эффектов иризина является усиление экспрессии mPHK маркера астроцитов гевина и подавлению mPHK фактора роста опухоли 1 (TGF- β 1) при его подкожном введении [185].

Все эти наблюдения дают новый импульс изучению действия иризина на мозг с использованием глиии как клеточной модели для изучения действия иризина. Однако, несмотря на экспериментальные данные, показывающее как существование интегринового рецептора α v β 5 для иризина, так и его влияние на глиальную и нейрональную активность и поведение, модель, которая бы описывала связь между увеличением содержания иризина в мозге и изменениями активности мозговой ткани, все еще отсутствует.

АУТОФАГИЯ КАК МИШЕНЬ ИРИЗИНА

К настоящему моменту экспериментально доказано взаимодействие между иризином и аутофагией в клетках, не относящихся к нейрональным ли-

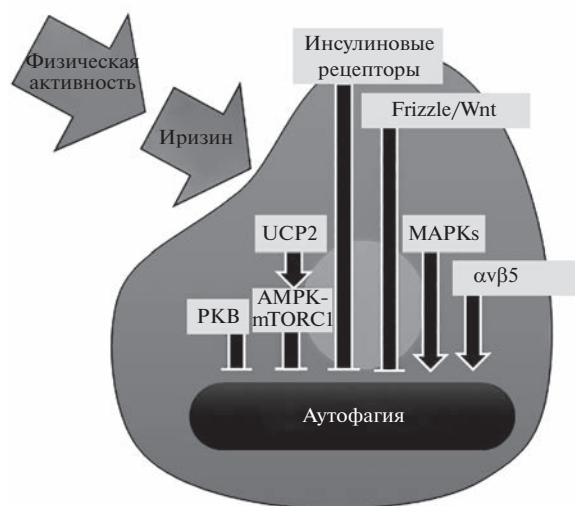


Рис. 4. Молекулярные мишени иризина. AMPK — 5'-AMP-activated protein kinase; Frizzle/Wnt — key proteins of respective pathway Insulin Rs—Trk insulin Receptors; mTORC1 — mammalian target of rapamycin complex 1; PKB — protein kinase B (Akt); UCP2 — uncoupled protein 2; $\alpha\beta 5$ — интегриновый рецептор.

ниям. Анализ молекулярных эффектов иризина позволяет указать на несколько внутриклеточных сигнальных молекул, прежде всего, mTORC1 и PI3K/Akt, которые могли бы определить его влияние на аутофагию в нейронах и глии (рис. 4). Несмотря на вовлечение удостоверенных негативных регуляторов аутофагии, имеющиеся литературные источники, в основном, сообщают об активирующем аутофагию действии иризина, что подразумевает существование более активных позитивных регуляторов, таких как MAPK.

Иризин приводит к повышению активности протеинкиназы В (PKB или Akt) в кардиомиоцитах, клетках H9c2 и эндотелиальных клетках и, соответственно, к повышению активности mTORC1 и снижению активности аутофагии [190–194]. Song и соавт. показали, что экзогенный иризин (50–200 нг/мл, 24–48 ч) снижал аутофагию в клетках H9c2, о чем свидетельствовало уменьшение отношения LC3II/LC3I. Однако авторы указали, что этот негативный эффект только частично зависел от сигнального пути PI3K/Akt [195]. Как было показано в культивируемых клетках INS-1, иризин-активируемый каскад 5'-AMP-активируемой протеинкиназы (AMPK)-mTORC1 увеличивает выживаемость клеток, продуцирующих инсулин [196–198]. Было показано, что помимо активации пути AMPK-mTOR иризин приводил к независимой от mTORC1 активации пути AMPK-ULK1, при этом уменьшая гипертрофию сердца [197, 199]. AMPK также активируется несвязанным белком 2 (UCP2) [200], экспрессия которого снижается в отсутствие иризина в эндотелиальных клетках

[171]. Кроме того, известно, что путь Frizzle/Wnt модулируется в присутствии иризина и, в свою очередь, регулирует поток аутофагии в адипоцитах [201, 202]. Зависимый от митоген-активируемых протеинкиназ (MAPKs) путь, способствующий регуляции аутофагии, также модулируется иризином [203, 204]. Стоит упомянуть, что ФА положительно модулирует передачу сигналов Frizzle/Wnt и передачу сигналов MAPK, а также передачу сигналов инсулина [170], которая, в свою очередь, связана с фосфатидилинозитол-3-фосфатом (PI3P)/PKB и MAPK мессенджерной системой. Иризин (250 мкг/кг, однократная доза) улучшает аутофагию в зрелых гепатоцитах *in vivo* за счет повышения активности теломеразы. Более того, однократное введение иризина приводило к увеличению соотношения LC3II/LC3I, а также к снижению экспрессии p62 в гепатоцитах, что может указывать на изменение баланса между секреторной и литической аутофагией [205]. Pang и соавт. показали, что экзогенный иризин (100 нг/мл, 72 ч) приводит к увеличению уровней LC3II и p62, а также к увеличению отношения LC3II/LC3I в гладкомышечных клетках сосудов у мышей. Примечательно, что этот эффект сопровождался увеличением уровней мРНК Map1lc3b, Becn1, Atg7, Atg5, Lamp1, что дополнительно подчеркивает эпигеномные эффекты иризина [206]. Пан и соавт. показали, что экзогенный иризин (20 нМ, 48 ч) уменьшал токсический эффект доксорубина в культуре эндотелиальных клеток. Хотя иризин сам по себе не проявлял никаких эффектов, его действие находилось в зависимости от уровня аутофагии, поскольку цитопротекторная комбинация иризина и доксорубина приводила к значительному увеличению p62 и очень умеренному увеличению отношения LC3II/LC3I [171]. Иризин также активировал вызванную Opa1 митофагию, что сопровождалось более эффективным контролем энергетического метаболизма в кардиомиоцитах [207].

Наши недавние исследования дают представление о дополнительном механизме связи между стимуляцией аутофагии и нейропластичностью и позволяют включить иризин в механизм такой связи. Анализ секретома астроцитов выявил, что зависимость от экспрессии ATG5 аутофагия имеет решающее значение для высвобождения матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9). Анализ секретома префронтальной коры *in vivo* показал, что увеличение внеклеточных уровней mBDNF в условиях активации во время острого стресса совпадало с высвобождением MMP9, но не про-BDNF. Этот эффект отсутствовал при деpleции гена *fkbp5*, ассоциированного с позитивной регуляцией аутофагии [208]. Более того, уменьшение вызванного стрессом увеличения внеклеточного mBDNF при подавлении аутофагии ингибитором ULK1 совпало со снижением высвобождения карго аутофагосом катепсина D и MMP9. Мы полагаем, что иризин

активирует астроцитарные $\alpha\upsilon\beta 5$ и, положительно модулируя аутофагию [209], способствует секреции MMP9 и активации BDNF сигналинга. Предлагаемый сценарий учитывает, что эффект иризина зависит от паттерна экспрессии интегрина $\alpha\upsilon\beta 5$, и поэтому для его экспериментального подтверждения требуется различение эффекта иризина в нейронах и глиальных клетках. Предложенная гипотеза позволяет избежать вопроса о необходимости активации синтеза иризина в нейронах для повышения экспрессии BDNF, поскольку она связана только с увеличением содержания иризина, независимо от источника такого увеличения. Также предполагаемый механизм предусматривает активную кооперацию астроцитов и нейронов в реализации нейропластичности и предлагает механизм связи между аутофагией и нейропластичностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эффективность ФА как модулятора мозговой деятельности иллюстрируется естественной историей человека. На ранних этапах своей эволюции *Homo sapiens* приспособивался к кочевой жизни, что требовало активного перемещения по саванне при осуществлении целенаправленного поведения и согласованной деятельности в социальных группах для эффективного добывания пищи и защиты племени. Такая активность сопровождалась необходимостью в эффективной пространственной навигации и значительной физической активности. Поведенческая адаптация поддерживалась соответствующими нейропластическими и морфологическими изменениями в головном мозге [210, 211], которые стабилизировались в геноме [212].

Физическая активность в последнее время рассматривается не только как компонент здорового образа жизни, но и как терапевтическое средство улучшения функции мозга. Механизмы, лежащие в основе эффектов ФА в мозге, могут быть парадигмой для поиска нового фармакологического воздействия для лечения психопатологических заболеваний. В этом обзоре мы предположили, что нейропластичность, связанная с ФА, частично опосредована аутофагией, запускаемой иризином. Поскольку стимулирующие аутофагию воздействия рассматриваются в качестве предпосылки успешной терапии психических расстройств, иризин выступает в качестве молекулы-прототипа для поиска новых фармакологических психоактивных средств. Будущие исследования механической связи между иризином и аутофагией улучшат наше понимание механизма, обуславливающего физиологически релевантную терапию психических расстройств.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Анне Александровне Чижиковой за проведенную вычитку рукописи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gu J., Kanai R. // *Front. Hum. Neurosci.* 2014. Vol. 8. P. 262.
2. Mateos-Aparicio P., Rodríguez-Moreno A. // *Front. Cell. Neurosci.* 2019. V. 13. P. 66.
3. Voss P., Thomas M.E., Cisneros-Franco J.M., de Villers-Sidani É. // *Front. Psychol.* 2017. V. 8. P. 1657.
4. Castrén E., Rantamäki T. // *Dev. Neurobiol.* 2010. V. 70. № 5. P. 289–297.
5. Bettio L., Thacker J.S., Hutton C., Christie B.R. // *Int. Rev. Neurobiol.* 2019. V. 147. P. 295–322.
6. Di Liegro C.M., Schiera G., Proia P., Di Liegro I. // *Genes (Basel)*. 2019. V. 10. № 9.
7. Giménez-Meseguer J., Tortosa-Martínez J., Cortell-Tormo J.M. // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020. V. 17. № 10.
8. Swenson S., Blum K., McLaughlin T., Gold M.S., Thanos P.K. // *J. Neurol. Sci.* 2020. V. 412. P. 116763.
9. Jin Y., Sumsuzzman D., Choi J., Kang H., Lee S.-R., Hong Y. // *Molecules*. 2018. V. 23. № 12. P. 3229.
10. Jang Y. // *Neuroreport*. 2020. V. 31. № 6. P. 442–449.
11. Nikolettou V., Sidiropoulou K., Kallergi E., Dalezios Y., Tavernarakis N. // *Cell Metabolism*. 2017. V. 26. № 1. P. 230–242. e5.
12. Compté A., Brunel N., Goldman-Rakic P.S., Wang X.J. // *Cereb. Cortex*. 2000. V. 10. № 9. P. 910–923.
13. Spaak E., Watanabe K., Funahashi S., Stokes M.G. // *J. Neurosci.* 2017. V. 37. № 27. P. 6503–6516.
14. Bernardinelli Y., Nikonenko I., Muller D. // *Front. Neuroanat.* 2014. V. 8. P. 123.
15. Goto Y., Yang C.R., Otani S. // *Biol. Psychiatry*. 2010. V. 67. № 3. P. 199–207.
16. Vyas S., Rodrigues A.J., Silva J.M., Tronche F., Almeida O.F.X., Sousa N., Sotiropoulos I. // *Neural Plast.* 2016. P. 6391686.
17. Chen Q.-Y., Li X.-H., Zhuo M. // *Neuropharmacology*. 2021. V. 197. P. 108749.
18. Evans H.T., Blackmore D., Götz J., Bodea L.-G. // *Brain Res. Bull.* 2021. V. 169. P. 94–103.
19. Lee P.R., Fields R.D. // *Neuroscientist*. 2021. V. 27. № 4. P. 355–366.
20. Lim S.-H., Lee N.-Y., Ryu J.Y., An J.H., Lee G.S., Min S.S., Moon J., Lee J.-R. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022. V. 626. P. 92–99.

21. McEwen B.S., Chattarji S. // European Neuropsychopharmacology. 2004. V. 14. P. S497–S502.
22. Nitsche M.A., Müller-Dahlhaus F., Paulus W., Ziemann U. // J. Physiol. 2012. V. 590. Pt 19. P. 4641–4662.
23. Kraus C., Castrén E., Kasper S., Lanzenberger R. // Neurosci. Biobehav. Rev. 2017. V. 77. P. 317–326.
24. Kugathasan P., Waller J., Westrich L., Abdourahman A., Tamm J.A., Pehrson A.L., Dale E., Gulinello M., Sanchez C., Li Y. // J. Psychopharmacol. 2017. V. 31. № 3. P. 365–376.
25. Grimm J.W., Lu L., Hayashi T., Hope B.T., Su T.-P., Shaham Y. // J. Neurosci. 2003. V. 23. № 3. P. 742–747.
26. Lu L., Grimm J.W., Hope B.T., Shaham Y. // Neuropharmacology. 2004. V. 47 Suppl 1. P. 214–226.
27. Friedel E., Schlagenhauf F., Sterzer P., Park S.Q., Bermpohl F., Ströhle A., Stoy M., Puls I., Hägele C., Wrase J., Büchel C., Heinz A. // Psychopharmacology (Berl). 2009. V. 205. № 2. P. 261–271.
28. Mitra R., Jadhav S., McEwen B.S., Vyas A., Chattarji S. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2005. V. 102. № 26. P. 9371–9376.
29. Casarotto P.C., Giryh M., Fred S.M., Kovaleva V., Moliner R., Enkavi G., Biojone C., Cannarozzo C., Sahu M.P., Kaurinkoski K., Brunello C.A., Steinzeig A., Winkel F., Patil S., Vestring S., Serchov T., Diniz C.R.A.F., Laukkanen L., Cardon I., Antila H., Rog T., Piepponen T.P., Bramham C.R., Normann C., Lauri S.E., Saarma M., Vattulainen I., Castrén E. // Cell. 2021. V. 184. № 5. P. 1299–1313.e19.
30. Cohen S., Levi-Montalcini R., Hamburger V. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1954. V. 40. № 10. P. 1014–1018.
31. Tsai S.-J. // Front. Mol. Neurosci. 2018. V. 11. P. 156.
32. Leal G., Comprido D., Duarte C.B. // Neuropharmacology. 2014. V. 76. Pt C. P. 639–656.
33. Levi-Montalcini R., Hamburger V. // J. Exp. Zool. 1951. V. 116. № 2. P. 321–361.
34. Batchelor P.E., Liberatore G.T., Porritt M.J., Donnan G.A., Howells D.W. // Eur. J. Neurosci. 2000. V. 12. № 10. P. 3462–3468.
35. Danzer S.C., Kotloski R.J., Walter C., Hughes M., McNamara J.O. // Hippocampus. 2008. V. 18. № 7. P. 668–678.
36. Kojima M., Mizui T. // Vitam. Horm. 2017. V. 104. P. 19–28.
37. Mizui T., Ishikawa Y., Kumanogoh H., Kojima M. // Pharmacol. Res. 2016. V. 105. P. 93–98.
38. Winckler B. // Cell. 2007. Vol. 129. № 3. P. 459–460.
39. Niculescu D., Michaelsen-Preusse K., Güner Ü., van Dorland R., Wierenga C.J., Lohmann C. // Cell Rep. 2018. V. 24. № 8. P. 2063–2074.
40. Castrén E., Kojima M. // Neurobiol. Dis. 2017. V. 97. Pt B. P. 119–126.
41. McEwen B.S. // Physiol. Rev. 2007. V. 87. № 3. P. 873–904.
42. Autry A.E., Adachi M., Nosyreva E., Na E.S., Los M.F., Cheng P., Kavali E.T., Monteggia L.M. // Nature. 2011. V. 475. № 7354. P. 91–95.
43. Chen B., Dowlatshahi D., MacQueen G.M., Wang J.F., Young L.T. // Biol. Psychiatry. 2001. V. 50. № 4. P. 260–265.
44. Dunham J.S., Deakin J.F.W., Miyajima F., Payton A., Toro C.T. // J. Psychiatr. Res. 2009. V. 43. № 14. P. 1175–1184.
45. Hashimoto K., Shimizu E., Iyo M. // Brain Res. Brain Res. Rev. 2004. V. 45. № 2. P. 104–114.
46. Hong Y.-P., Lee H.-C., Kim H.-T. // J. Exerc. Nutrition Biochem. 2015. V. 19. № 1. P. 11–18.
47. Ibarguen-Vargas Y., Surget A., Vourc'h P., Leman S., Andres C.R., Gardier A.M., Belzung C. // Behav. Brain Res. 2009. V. 202. № 2. P. 245–251.
48. Lee H.-Y., Kim Y.-K. // Neuropsychobiology. 2008. V. 57. № 4. P. 194–199.
49. Tanichi M., Toda H., Shimizu K., Koga M., Saito T., Enomoto S., Boku S., Asai F., Mitsui Y., Nagamine M., Fujita M., Yoshino A. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2018. V. 501. № 1. P. 307–312.
50. Bhatt D.H., Zhang S., Gan W.-B. // Annu. Rev. Physiol. 2009. V. 71. P. 261–282.
51. Daskalaki A.-D., Kallergi E., Kolaxi A., Nikolettou V. // Autophagy. 2022. V. 18. № 8. P. 2011–2012.
52. Kuijpers M. // Neuronal Signal. 2022. V. 6, № 2. P. NS20210063.
53. Liang Y. // Cells. 2019. V. 8. № 1. P. 34.
54. Liang Y., Sigrist S. // Curr. Opin. Neurobiol. 2018. V. 48. P. 113–121.
55. Nikolettou V., Tavernarakis N. // Trends Cell Biol. 2018. V. 28. № 8. P. 646–661.
56. Ohsumi Y. // Cell Res. 2014. Vol. 24. № 1. P. 9–23.
57. Parzych K.R., Klionsky D.J. // Antioxid. Redox Signal. 2014. V. 20. № 3. P. 460–473.
58. Hibshman J.D., Leuthner T.C., Shoben C., Mello D.F., Sherwood D.R., Meyer J.N., Baugh L.R. // American Journal of Physiology-Cell Physiology. 2018. V. 315. № 6. P. C781–C792.
59. Maday S., Holzbaur E.L.F. // Dev. Cell. 2014. V. 30. № 1. P. 71–85.
60. Mizushima N., Yamamoto A., Matsui M., Yoshimori T., Ohsumi Y. // Mol. Biol. Cell. 2004. V. 15. № 3. P. 1101–1111.
61. Kulkarni V.V., Maday S. // Dev. Neurobiol. 2018. V. 78. № 3. P. 298–310.
62. Kulkarni A., Chen J., Maday S. // Curr. Opin. Neurobiol. 2018. V. 51. P. 29–36.
63. Purnell P.R., Fox H.S. // BMC Neurosci. 2013. V. 14. P. 86.
64. Marzella L., Ahlberg J., Glaumann H. // Virchows Arch., B, Cell Pathol. 1981. V. 36. № 2–3. P. 219–234.
65. Majeski A.E., Dice J.F. // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2004. V. 36, № 12. P. 2435–2444.
66. Kaushik S., Cuervo A.M.C. // Trends Cell Biol. 2012. V. 22. № 8. P. 407–417.
67. Mijaljica D., Prescott M., Devenish R.J. // Autophagy. 2011. V. 7. № 7. P. 673–682.
68. Zhao Y., Luo Y., Liu Y., Lenahan C., Wu Q., Chen S. // Mol. Biol. Rep. 2022. V. 49. № 11. P. 0775–10782.
69. Xie Z., Klionsky D.J. // Nat. Cell Biol. 2007. V. 9. № 10. P. 1102–1109.

70. Mizushima N., Komatsu M. // *Cell*. 2011. V. 147. № 4. P. 728–741.
71. He C., Klionsky D.J. // *Annu. Rev. Genet.* 2009. V. 43. P. 67–93.
72. Kimura T., Jain A., Choi S.W., Mandell M.A., Johansen T., Deretic V. // *Autophagy*. 2017. V. 13, № 5. P. 989–990.
73. Claude-Taupin A., Bissa B., Jia J., Gu Y., Deretic V. // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2018. V. 83. P. 36–41.
74. Nakatogawa H., Suzuki K., Kamada Y., Ohsumi Y. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2009. V. 10. № 7. P. 458–467.
75. Fukumoto K., Fogaça M.V., Liu R.-J., Duman C., Kato T., Li X.-Y., Duman R.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2019. V. 116. № 1. P. 297–302.
76. LiCausi F., Hartman N // *IJMS*. 2018. Vol. 19. № 5. P. 1544.
77. Nicklin P., Bergman P., Zhang B., Triantafellow E., Wang H., Nyfeler B., Yang H., Hild M., Kung C., Wilson C., Myer V.E., MacKeigan J.P., Porter J.A., Wang Y.K., Cantley L.C., Finan P.M., Murphy L.O. // *Cell*. 2009. V. 136. № 3. P. 521–534.
78. Sheen J.-H., Zoncu R., Kim D., Sabatini D.M. // *Cancer Cell*. 2011. V. 19. № 5. P. 613–628.
79. Hegde A.N. // *Neurobiol Learn Mem.* 2017. V. 138. P. 98–110.
80. Jia J., Le W. // *Neurosci Bull.* 2015. V. 31. № 4. P. 427–434.
81. Kijak E., Pyza E. // *PLoS ONE*. 2017. V. 12. № 2. P. e0171848.
82. Kim H.-J., Cho M.-H., Shim W.H., Kim J.K., Jeon E.-Y., Kim D.-H., Yoon S.-Y. // *Mol. Psychiatry*. 2017. V. 22. № 11. P. 1576–1584.
83. Lüningschrör P., Sendtner M. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2018. V. 51. P. 80–85.
84. Shehata M., Inokuchi K. // *Rev. Neurosci.* 2014. V. 25. № 4. P. 543–557.
85. Zhang H., Shang Y., Xiao X., Yu M., Zhang T. // *Exp. Neurol.* 2017. V. 298. Pt A. P. 68–78.
86. Lalo U., Nezis I.P., Pankratov Y. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 16. P. 9228.
87. Kallergi E., Daskalaki A.D., Kolaxi A., Camus C., Ioannou E., Mercaldo V., Haberkant P., Stein F., Sidiropoulou K., Dalezios Y., Savitski M.M., Bagni C., Choquet D., Hossy E., Nikolettoulou V. // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. № 1. P. 680.
88. Hernandez D., Torres C.A., Setlik W., Cebrián C., Mosharov E.V., Tang G., Cheng H.C., Kholodilov N., Yarygina O., Burke R.E., Gershon M., Sulzer D. // *Neuron*. 2012. V. 74. № 2. P. 277–284.
89. Binotti B., Pavlos N.J., Riedel D., Wenzel D., Vorbrüggen G., Schalk A.M., Kühnel K., Boyken J., Erck C., Martens H., Chua J.J., Jahn R. // *Elife*. 2015. V. 4. P. e05597.
90. Xu T.T., Li H., Dai Z., Lau G.K., Li B.Y., Zhu W.L., Liu X.Q., Liu H.F., Cai W.W., Huang S.Q., Wang Q., Zhang S.J. // *Aging (Albany NY)*. 2020. V. 12. № 7. P. 6401–6414.
91. Kim Y.C., Guan K.-L. // *J. Clin. Invest.* 2015. V. 125. № 1. P. 25–32.
92. Smith E.D., Prieto G.A., Tong L., Sears-Kraxberger I., Rice J.D., Steward O., Cotman C.W. // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 30. P. 20615–20629.
93. Gassen N.C., Fries G.R., Zannas A.S., Hartmann J., Zschocke J., Hafner K., Carrillo-Roa T., Steinbacher J., Preißinger S.N., Hoeijmakers L., Knop M., Weber F., Kloiber S., Lucae S., Chrousos G.P., Carell T., Ising M., Binder E.B., Schmidt M.V., Rüegg J., Rein T. // *Sci. Signal*. 2015. V. 8. № 404. P. ra119.
94. Rein T. // *Cells*. 2019. V. 8. № 1. P. 44.
95. Kononenko N.L., Claßen G.A., Kuijpers M., Puchkov D., Maritzen T., Tempes A., Malik A.R., Skalecka A., Bera S., Jaworski J., Haucke V. // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P. 14819.
96. Anderzhanova E., Hafner K., Genewsky A.J., Soliman A., Pöhlmann M.L., Schmidt M.V., Blum R., Wotjak C.T., Gassen N.C. // *Neurobiology of Stress*. 2020. V. 13. P. 100239.
97. Martinelli S., Anderzhanova E.A., Bajaj T., Wiechmann S., Dethloff F., Weckmann K., Heinz D.E., Ebert T., Hartmann J., Geiger T.M., Döngi M., Hafner K., Pöhlmann M.L., Jollans L., Philipsen A., Schmidt S.V., Schmidt U., Maccarrone G., Stein V., Hausch F., Turck C.W., Schmidt M.V., Gellner A.K., Kuster B., Gassen N.C. // *Nat. Commun.* 2021. V. 12. № 1. P. 4643.
98. Zhang M., Kenny S.J., Ge L., Xu K., Schekman R. // *Elife*. 2015. V. 4. e11205.
99. Tan X., Du X., Jiang Y., Botchway B.O.A., Hu Z., Fang M. // *Front. Psychiatry*. 2018. V. 9. P. 434.
100. Otabe H., Nibuya M., Shimazaki K., Toda H., Suzuki G., Nomura S., Shimizu K. // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2014. V. 50. P. 37–43.
101. Bak D.H., Zhang E., Yi M.-H., Kim D.-K., Lim K., Kim J.-J., Kim D.W. // *Sci Rep*. 2015. V. 5. P. 15465.
102. Nixon R.A., Yang D.-S. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. V. 4, № 10. a008839.
103. Filippone A., Esposito E., Mannino D., Lyssenko N., Praticò D. // *Pharmacol Ther.* 2022. V. 238. P. 108178.
104. Sainani S.R., Pansare P.A., Rode K., Bhalchim V., Doke R., Desai S. // *Int. J. Neurosci.* 2022. V. 132. № 5. P. 466–482.
105. Tang M., Liu T., Jiang P., Dang R. // *Pharmacol Res.* 2021. V. 168. P. 105586.
106. Tomoda T., Yang K., Sawa A. // *Biol. Psychiatry*. 2020. V. 87. № 9. P. 787–796.
107. Bareja A., Lee D.E., White J.P. // *Front. Cell. Dev. Biol.* 2019. V. 7. P. 183.
108. Chung K.W., Chung H.Y. // *Nutrients*. 2019. V. 11. № 12. P. 2923.
109. Escobar K.A., Cole N.H., Mermier C.M., VanDusseldorp T.A. // *Aging Cell*. 2019. V. 18. № 1. P. e12876.
110. He C., Sumpter, Jr. R., Levine B. // *Autophagy*. 2012. V. 8, № 10. P. 1548–1551.
111. Kou X., Chen D., Chen N. // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 7. P. 1591.
112. Grigolon R.B., Brietzke E., Trevizol A.P., McIntyre R.S., Mansur R.B. // *J. Psychiatr. Res.* 2020. V. 128. P. 16–22.
113. Horowitz A.M., Fan X., Bieri G., Smith L.K., Sanchez-Diaz C.I., Schroer A.B., Gontier G., Casaletto K.B.,

- Kramer J.H., Williams K.E., Villeda S.A.* // Science. 2020. V. 369. № 6500. P. 167–173.
114. *Hugenschmidt C.E., Leng X., Lyles M., Michael L., Dougherty A., Babcock P., Baker L.D., Brinkley T.E., Nicklas B.J.* // Obesity (Silver Spring). 2019. V. 27. № 8. P. 1266–1274.
115. *Törpel A., Herold F., Hamacher D., Müller N., Schega L.* // JCM. 2018. V. 7. № 10. P. 337.
116. *Wilke J.* // Sci. Rep. 2020. V. 10, № 1. P. 12335.
117. *Witte A.V., Fobker M., Gellner R., Knecht S., Flöel A.* // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2009. V. 106. № 4. P. 1255–1260.
118. *Yang F., Chu X., Yin M., Liu X., Yuan H., Niu Y., Fu L.* // Behav. Brain Res. 2014. V. 264. P. 82–90.
119. *Yegla B., Foster T.* // Front. Aging Neurosci. 2019. V. 11. P. 296.
120. *Bherer L.* // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2015. V. 1337. P. 1–6.
121. *Cassilhas R.C., Tufik S., de Mello M.T.* // Cell. Mol. Life Sci. 2016. V. 73. № 5. P. 975–983.
122. *Phillips C.* // Neural. Plast. 2017. V. 2017. P. 7260130.
123. *Rassovsky Y., Alfassi T.* // Front. Psychol. 2019. V. 9. P. 2747.
124. *Suarez-Manzano S., Ruiz-Ariza A., De La Torre-Cruz M., Martínez-López E.J.* // Res. Dev. Disabil. 2018. V. 77. P. 12–23.
125. *Broadhouse K.M., Singh M.F., Suo C., Gates N., Wen W., Brodaty H., Jain N., Wilson G.C., Meiklejohn J., Singh N., Baune B.T., Baker M., Foroughi N., Wang Y., Kochan N., Ashton K., Brown M., Li Z., Mavros Y., Sachdev P.S., Valenzuela M.J.* // Neuroimage Clin. 2020. V. 25. P. 102182.
126. *Firth J., Stubbs B., Vancampfort D., Schuch F., Lagopoulos J., Rosenbaum S., Ward P.B.* // Neuroimage. 2018. V. 166. P. 230–238.
127. *Tarkka I.M., Hautasaari P., Pesonen H., Niskanen E., Rottensteiner M., Kaprio J., Savić A.M., Kujala U.M.* // J. Phys. Act. Health. 2019. V. 16. № 8. P. 637–643.
128. *Chen Z., Lan W., Yang G., Li Y., Ji X., Chen L., Zhou Y., Li S.* // Front. Psychol. 2020. V. 11. P. 569206.
129. *Raichlen D.A., Klimentidis Y.C., Bharadwaj P.K., Alexander G.E.* // Brain Imaging Behav. 2020. V. 14. № 5. P. 1994–2003.
130. *Bannerman D.M., Sprengel R., Sanderson D.J., McHugh S.B., Rawlins J.N.P., Monyer H., Seeburg P.H.* // Nat. Rev. Neurosci. 2014. V. 15. № 3. P. 181–192.
131. *Morris R.G.M., Moser E.I., Riedel G., Martin S.J., Sandin J., Day M., O'Carroll C.* // Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci. 2003. V. 358. № 1432. P. 773–786.
132. *Kim T.-W., Baek K.-W., Yu H.S., Ko I.-G., Hwang L., Park J.-J.* // J. Exerc. Rehabil. 2020. V. 16. № 2. P. 124–131.
133. *Müller P., Duderstadt Y., Lessmann V., Müller N.G.* // J. Clin. Med. 2020. V. 9. № 4. P. 136.
134. *Nicolini C., Michalski B., Toepf S.L., Turco C.V., D'Hoine T., Harasym D., Gibala M.J., Fahnstock M., Nelson A.J.* // Neuroscience. 2020. V. 437. P. 242–255.
135. *Park J., Cheon W., Kim K.* // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2020. V. 17. № 9. P. 3317.
136. *Sugiyama A., Kato H., Takakura H., Osawa S., Maeda Y., Izawa T.* // Neuropsychopharmacol. Rep. 2020. V. 40. № 3. P. 291–296.
137. *Knaepen K., Goekint M., Heyman E.M., Meeusen R.* // Sports Med. 2010. V. 40. № 9. P. 765–801.
138. *Quan H., Koltai E., Suzuki K., Aguiar A.S., Pinho R., Boldogh I., Berkes I., Radak Z.* // Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. 2020. V. 1866. № 10. P. 165778.
139. *Walsh E.I., Smith L., Northey J., Rattray B., Cherbuin N.* // Ageing Res. Rev. 2020. V. 60. P. 101044.
140. *Li F., Geng X., Yun H.J., Haddad Y., Chen Y., Ding Y.* // Aging and Disease. 2021. V. 12. № 7. P. 1644.
141. *Morland C., Andersson K.A., Haugen Ø.P., Hadzic A., Kleppa L., Gille A., Rinholm J.E., Palibrk V., Diget E.H., Kennedy L.H., Stølen T., Hennestad E., Moldestad O., Cai Y., Puchades M., Offermanns S., Vervaeke K., Bjørås M., Wisløff U., Storm-Mathisen J., Bergersen L.H.* // Nat. Commun. 2017. V. 8. № 1. P. 15557.
142. *Cotman C.W., Berchtold N.C., Christie L.-A.* // Trends Neurosci. 2007. Vol. 30. № 9. P. 464–472.
143. *Dishman R.K., Berthoud H.R., Booth F.W., Cotman C.W., Edgerton V.R., Fleshner M.R., Gandevia S.C., Gomez-Pinilla F., Greenwood B.N., Hillman C.H., Kramer A.F., Levin B.E., Moran T.H., Russo-Neustadt A.A., Salamon J.D., Van Hoomissen J.D., Wade C.E., York D.A., Zigmond M.J.* // Obesity (Silver Spring). 2006. V. 14. № 3. P. 345–356.
144. *Draganski B., May A.* // Behav. Brain Res. 2008. V. 192. № 1. P. 137–142.
145. *Mueller P.J.* // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2007. V. 34. № 4. P. 377–384.
146. *Björkholm C., Monteggia L.M.* // Neuropharmacology. 2016. V. 102. P. 72–79.
147. *Liu J., Gao S., Zhang L.* // Preprint. Sports Medicine, 2022.
148. *Zhang Y., Fu R., Sun L., Gong Y., Tang D.* // Front. Psychol. 2019. V. 10. P. 1888.
149. *Seiffer B., Hautzinger M., Ulrich R., Wolf S.* // J. Atten. Disord. 2022. V. 26. № 5. P. 656–673.
150. *Pedersen B.K.* // Nat. Rev. Endocrinol. Nature Publishing Group, 2019. V. 15. № 7. P. 383–392.
151. *Jin Z., Guo P., Li X., Ke J., Wang Y., Wu H.* // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019. V. 120. P. 109452.
152. *Kirk B., Feehan J., Lombardi G., Duque G.* // Curr. Osteoporos. Rep. 2020.
153. *Dun S.L., Lyu R.-M., Chen Y.-H., Chang J.-K., Luo J.J., Dun N.J.* // Neuroscience. 2013. V. 240. P. 155–162.
154. *Lourenco M.V., Frozza R.L., de Freitas G.B., Zhang H., Kincheski G.C., Ribeiro F.C., Gonçalves R.A., Clarke J.R., Beckman D., Staniszewski A., Berman H., Guerra L.A., Forny-Germano L., Meier S., Wilcock D.M., de Souza J.M., Alves-Leon S., Prado V.F., Prado M.A.M., Abisambra J.F., Tovar-Moll F., Mattos P., Arancio O., Ferreira S.T., De Felice F.G.* // Nat. Med. 2019. V. 25. № 1. P. 165–175.
155. *Li H., Zhang Y., Wang F., Donelan W., Zona M.C., Li S., Reeves W., Ding Y., Tang D., Yang L.* // Am. J. Transl. Res. 2019. V. 11. № 12. P. 7410–7421.
156. *Waseem R., Shamsi A., Mohammad T., Hassan M.I., Kazim S.N., Chaudhary A.A., Rudayni H.A., Al-Zahrani M., Ahmad F., Islam A.* // Molecules. 2022. V. 27. № 3. P. 1118.

157. Cornish S.M., Bugera E.M., Duhamel T.A., Peeler J.D., Anderson J.E. // Eur. J. Appl. Physiol. 2020. V. 120. № 5. P. 941–959.
158. Vidal P., Stanford K.I. // Front. Endocrinol. 2020. V. 11. P. 270.
159. Jedrychowski M.P., Wrann C.D., Paulo J.A., Gerber K.K., Szpyt J., Robinson M.M., Nair K.S., Gygi S.P., Spiegelman B.M. // Cell Metabolism. 2015. V. 22. № 4. P. 734–740.
160. Löffler D., Müller U., Scheuermann K., Friebe D., Gesing J., Bielitz J., Erbs S., Landgraf K., Wagner I.V., Kiess W., Körner A. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2015. V. 100. № 4. P. 1289–1299.
161. Qiu S., Bosnyák E., Zügel M., Steinacker J.M., Schumann U. // Arch. Endocrinol. Metab. 2020. V. 64. № 3. P. 201–204.
162. Ruan Q., Zhang L., Ruan J., Zhang X., Chen J., Ma C., Yu Z. // Peptides. 2018. V. 103. P. 60–64.
163. Tari A.R. et al. // Prog. Cardiovasc. Dis. 2019. V. 62. № 2. P. 94–101.
164. Tsuchiya Y., Ando D., Goto K., Kiuchi M., Yamakita M., Koyama K. // Tohoku J. Exp. Med. 2014. V. 233. № 2. P. 135–140.
165. Murao M., Imano T., Akiyama J., Kawakami T., Nakajima M. // Growth Factors. 2019. V. 37. № 5–6. P. 257–262.
166. Albrecht E., Norheim F., Thiede B., Holen T., Ohashi T., Schering L., Lee S., Brenmoehl J., Thomas S., Drevon C.A., Erickson H.P., Maak S. // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 8889.
167. Norheim F., Langleite T.M., Hjorth M., Holen T., Kjeland A., Stadheim H.K., Gulseth H.L., Birkeland K.I., Jensen J., Drevon C.A. // FEBS J. 2014. V. 281. № 3. P. 739–749.
168. Cheng Y., Cui Y., Zhai Y., Xin W., Yu Y., Liang J., Li S., Sun H. // Front. Cell. Neurosci. 2021. V. 15. P. 738533.
169. Stranahan A.M., Lee K., Becker K.G., Zhang Y., Maudsley S., Martin B., Cutler R.G., Mattson M.P. // Neurobiol. Aging. 2010. V. 31. № 11. P. 1937–1949.
170. Pan J., Zhang H., Lin H., Gao L., Zhang H., Zhang J., Wang C., Gu J. // Redox Biology. 2021. V. 46. P. 102120.
171. Islam M.R., Valaris S., Young M.F., Haley E.B., Luo R., Bond S.F., Mazuera S., Kitchen R.R., Caldarone B.J., Bettio L.E.B., Christie B.R., Schmider A.B., Soberman R.J., Besnard A., Jedrychowski M.P., Kim H., Tu H., Kim E., Choi S.H., Tanzi R.E., Spiegelman B.M., Wrann C.D. // Nat. Metab. 2021. V. 3. № 8. P. 1058–1070.
172. Otvos L., Wade J.D. // Front Chem. 2014. V. 2. P. 62.
173. Piya M.K., Harte A.L., Sivakumar K., Tripathi G., Voyias P.D., James S., Sabico S., Al-Daghri N.M., Saravanan P., Barber T.M., Kumar S., Vatish M., McTernan P.G. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2014. V. 306. № 5. P. E512–518.
174. Ruan Q., Huang Y., Yang L., Ruan J., Gu W., Zhang X., Zhang Y., Zhang W., Yu Z. // Peptides. 2019. V. 113. P. 41–51.
175. BrainStars. // BrainStars. 2020. URL: http://brainstars.org/probeset/1453135_at?
176. Siteneski A., Olescowicz G., Pazini F.L., Camargo A., Fraga D.B., Brocardo P.S., Gil-Mohapel J., Cunha M.P., Rodrigues A.L.S. // J Neural Transm (Vienna). 2020. V. 127. № 3. P. 355–370.
177. Delezje J., Handschin C. // Front. Neurol. 2018. V. 9. P. 698.
178. Wrann C.D., White J.P., Salogiannis J., Laznik-Bogoslavski D., Wu J., Ma D., Lin J.D., Greenberg M.E., Spiegelman B.M. // Cell Metab. 2013. V. 18. № 5. P. 649–659.
179. Ruan Q., Huang Y., Yang L., Li J., Gu W., Bao Z., Zhang X., Yu Z. // J. Nutr. Health Aging. 2020. V. 24. № 4. P. 412–422.
180. Mohammadi S., Oryan S., Komaki A., Eidi A., Zarei M. // Arq. Neuropsiquiatr. 2019. V. 77. № 12. P. 881–887.
181. Botanas C.J., Lee H., de la Peña J.B., Dela Peña I.J., Woo T., Kim H.J., Han D.H., Kim B.-N., Cheong J.H. // Physiol. Behav. 2016. V. 155. P. 30–37.
182. Huo C.J., Yu X.J., Sun Y.J., Li H.B., Su Q., Bai J., Li Y., Liu K.L., Qi J., Zhou S.W., Jia N., Zhu G.Q., Liu J.J., Kang Y.M. // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2020. V. 394. P. 114953.
183. Jodeiri Farshbaf M., Garasia S., Moussoki D.P.K., Mondal A.K., Cherkowsky D., Manal N., Alviña K. // Behav. Neurosci. 2020. V. 134. № 3. P. 233–247.
184. Wang S., Pan J. // Biochem. and Biophys. Res. Com. 2016. V. 474. № 1. P. 22–28.
185. Mongrédien R., Erdozain A.M., Dumas S., Cutando L., Del Moral A.N., Puighermanal E., Rezai Amin S., Giros B., Valjent E., Meana J.J., Gautron S., Callado L.F., Fabre V., Valalou V. // Brain Struct. Funct. 2019. V. 224. № 3. P. 1219–1244.
186. Hernandez L., Ward L.J., Arefin S., Ebert T., Laucyte-Cibulskiene A.; GOING-FWD Collaborators, Heimbürger O., Barany P., Wennberg L., Stenvinkel P., Kublickiene K. // Sci. Rep. 2022. V. 12. № 1. P. 4414.
187. Zarbakhsh S., Safari M., Aldaghi M.R., Sameni H.R., Ghahari L., Khaleghi Lagmouj Y., Rahimi Jaber K., Parsaie H. // Iran J. Basic Med. Sci. 2019. V. 22. № 7. P. 722–728.
188. Kim H., Wrann C.D., Jedrychowski M., Vidoni S., Kistase Y., Nagano K., Zhou C., Chou J., Parkman V.A., Novick S.J., Strutzenberg T.S., Pascal B.D., Le P.T., Brooks D.J., Roche A.M., Gerber K.K., Mattheis L., Chen W., Tu H., Bouxsein M.L., Griffin P.R., Baron R., Rosen C.J., Bonewald L.F., Spiegelman B.M. // Cell. 2018. V. 175. № 7. P. 1756–1768. e17.
189. Milner R., Huang X., Wu J., Nishimura S., Pytela R., Sheppard D., ffrench-Constant C. // J. Cell. Sci. 1999. V. 112 (Pt 23). P. 4271–4279.
190. Fu J., Han Y., Wang J., Liu Y., Zheng S., Zhou L., Jose P.A., Zeng C. // JAH. 2016. V. 5. № 11. P. e003433.
191. Gao X., Yu M., Sun W., Han Y., Yang J., Lu X., Jin C., Wu S., Cai Y. // Food Chem. Toxicol. 2021. V. 158. P. 112632.
192. Xie C., Zhang Y., Tran T.D., Wang H., Li S., George E.V., Zhuang H., Zhang P., Kandel A., Lai Y., Tang D., Reeves W.H., Cheng H., Ding Y., Yang L.J. // PLoS One. 2015. V. 10. № 8. P. e0136816.
193. Yang W., Ju J., Lee K., Nam K., Oh S., Shin I. // Exp. Cell Res. 2013. V. 319. № 3. P. 122–133.
194. Zajicek A.S., Ruan H., Dai H., Skolfield M.C., Phillips H.L., Burnette W.J., Javidfar B., Sun S.C., Akbarian S.,

- Yao W.D. // *Mol. Psychiatry*. 2022. V. 27. № 5. P. 2414–2424.
195. Song R., Zhao X., Cao R., Liang Y., Zhang D.-Q., Wang R. // *Gene*. 2021. V. 769. P. 145209.
196. Lee H.J., Lee J.O., Kim N., Kim J.K., Kim H.I., Lee Y.W., Kim S.J., Choi J.I., Oh Y., Kim J.H., Suyeon-Hwang, Park S.H., Kim H.S. // *Mol. Endocrinol*. 2015. V. 29. № 6. P. 873–881.
197. Li R.L., Wu S.S., Wu Y., Wang X.X., Chen H.Y., Xin J.J., Li H., Lan J., Xue K.Y., Li X., Zhuo C.L., Cai Y.Y., He J.H., Zhang H.Y., Tang C.S., Wang W., Jiang W. // *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2018. V. 121. P. 242–255.
198. Moon J.-H., Park S.-Y. // *Cell Commun. Signal*. 2020. V. 18. № 1. P. 109.
199. Yu Q., Kou W., Xu X., Zhou S., Luan P., Xu X., Li H., Zhuang J., Wang J., Zhao Y., Xu Y., Peng W. // *Clin. Sci*. 2019. V. 133. № 5. P. 611–627.
200. Mao J.-Y., Su L.-X., Li D.-K., Zhang H.-M., Wang X.-T., Liu D.-W. // *Ann. Transl. Med*. 2021. V. 9. № 3. P. 259.
201. Ma E.B., Sahar N.E., Jeong M., Huh J.Y. // *Front. Physiol*. 2019. V. 10. P. 1085.
202. Petherick K.J., Williams A.C., Lane J.D., Ordóñez-Morán P., Huelsken J., Collard T.J., Smartt H.J., Batson J., Malik K., Paraskeva C., Greenhough A. // *EMBO J*. 2013. V. 32. № 13. P. 1903–1916.
203. Li Y., Halterman M.W. // *Biomolecules*. 2021. V. 11. № 12. P. 1871.
204. Mazur-Bialy A.I., Pocheć E., Zarawski M. // *Int. J. Mol. Sci*. 2017. V. 18. № 4. P. E701.
205. Bi J., Yang L., Wang T., Zhang J., Li T., Ren Y., Wang M., Chen X., Lv Y., Wu R. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020. V. 2020. P. 1–13.
206. Pang Q., Wang P., Pan Y., Dong X., Zhou T., Song X., Zhang A. // *Cell Death Dis*. 2022. V. 13. № 3. P. 283.
207. Xin T., Lu C. // *Aging (Albany NY)*. 2020. V. 12, № 5. P. 4474–4488.
208. Gassen N.C., Hartmann J., Zschocke J., Stepan J., Hafner K., Zellner A., Kirmeier T., Kollmannsberger L., Wagner K.V., Dedic N., Balsevich G., Deussing J.M., Kloiber S., Lucae S., Holsboer F., Eder M., Uhr M., Ising M., Schmidt M.V., Rein T. // *PLoS Med*. 2014. V. 11. № 11. P. e1001755.
209. Zhang D., Li C., Song Y., Zhou J., Li Y., Li J., Bai C. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol*. 2017. V. 313. № 2. P. L384–L394.
210. Duckworth S.C., Higginbotham C.S., Pederson J.A., Rogers R.R., Marshall M.R., Williams T.D., Ballmann C.G. // *Percept. Mot. Skills*. 2020. P. 31512520945088.
211. Lago T.R., Hsiung A., Leitner B.P., Duckworth C.J., Balderston N.L., Chen K.Y., Grillon C., Ernst M. // *Cogn. Emot*. 2019. V. 33. № 4. P. 863–870.
212. Noakes T., Spedding M. // *Nature*. 2012. V. 487. № 7407. P. 295–296.

Irisin at the Crossroad of Autophagy and BDNF Signaling for Neuroplasticity Regulation

E. A. Andyarzhanova^a and T. A. Voronina^b

^a Center for Strategic Planning Federal Medico-Biological Agency, Moscow, Russia

^b Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

Neuroplasticity is an integral feature of both the developing brain and the brain maintaining functional homeostasis and implementing adaptive changes at normal conditions and upon compensation for pathology. Support of neuroplasticity mechanisms of is one of the targets for therapeutic intervention in the treatment of neurodegenerative and stress-associated diseases. Progress in understanding the mechanisms of interaction between the muscular system and the brain points to the role of the myokine irisin in mediating the pro-cognitive and antidepressant activity of physical exercises. Irisin being released upon myocytes activation in the periphery can cross the blood-brain barrier and is thought to stimulate cellular autophagy. Autophagy-mediated activation of protein and macromolecule recycling promotes adaptive restructuring of synaptic contacts, and the release of proteases, including matrix metalloproteinase 9, which are determining the reformatting of the extracellular matrix, maturation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and, therefore, the positive regulation of BDNF signaling. Recent findings allow one to consider factors stimulating autophagy as prerequisites for successful treatment of neurological and psychiatric disorders, as well as age-related dementia. Therefore, irisin, as a physiological regulator of autophagy, appears as a prototype molecule for the creation of new therapeutic agents for the correction of neurodegenerative conditions and stress-associated brain disorders.

Keywords: neuroplasticity, BDNF, autophagy, irisin

НАРУШЕНИЯ НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ: НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ И ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НООТРОПОВ

© 2023 г. Н. Н. Заваденко*

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

Поступила в редакцию 22.11.2022 г.

После доработки 29.11.2022 г.

Принята к публикации 16.12.2022 г.

Расстройства нервно-психического развития (РНПР) характеризуются нарушениями формирования когнитивных функций, навыков общения, характеристик поведения и/или двигательных навыков, которые обусловлены отклонениями протекания процессов нейроонтогенеза. Факторы этиологии и патогенеза РНПР включают генетические механизмы, ранние повреждения развивающегося мозга, неблагоприятные внешние воздействия. Большинство форм РНПР манифестируют на ранних этапах развития и до того, как ребенок начинает обучение в школе. К наиболее распространенным РНПР, с которыми постоянно встречаются врачи различных специальностей, относятся нарушения развития речи и синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ). Поскольку среди механизмов патогенеза РНПР рассматриваются нарушения процессов нейропластичности, их терапия должна быть направлена на восстановление и стимуляцию потенциала нейропластичности. Проявления РНПР, претерпевая возрастную эволюцию, значительно нарушают нормальную жизнь и оказывают неблагоприятное влияние на различные функциональные сферы не только у детей, но также у подростков и взрослых. Нарастание симптомов у пациентов с РНПР в том или ином возрасте связано не с прогрессирующим характером церебральных изменений, а с усилением трудностей адаптации при увеличении нагрузок, в том числе учебных, социальных, профессиональных. Поэтому в большинстве случаев они требуют многолетнего комплексного воздействия и применения фармакотерапии, перспективы которой прежде всего связываются с ноотропными препаратами. Обсуждаются данные новых исследований эффективности ноотропов при дисфазии развития и СДВГ, рассматриваются возможные механизмы влияния ноотропов на процессы нейропластичности.

Ключевые слова: расстройства нервно-психического развития, нейропластичность, дисфазия развития, синдром дефицита внимания с гиперактивностью, фармакотерапия, ноотропные препараты

DOI: 10.31857/S102781332302022X, EDN: UDKOBD

РАССТРОЙСТВА НЕРВНО- ПСИХИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ (РНПР) И НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ

Нервно-психическое развитие (англ. Neurodevelopment) — динамичный комплекс сложных взаимосвязанных церебральных процессов (в том числе генетических, морфологических, когнитивных, эмоциональных, поведенческих) в ранний период жизни, когда происходит индивидуальное развитие [1]. К формированию РНПР (англ. Neurodevelopmental disorders) приводят значимые сбои процессов нейроонтогенеза.

РНПР — широкая по своим проявлениям группа состояний, которые охватывают общую

интеллектуальную недостаточность (расстройство развития интеллекта), коммуникативные расстройства (нарушения развития речи), расстройства аутистического спектра, синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), специфические расстройства обучения, расстройства развития двигательной сферы. Именно такой их перечень приводится в современных клинических классификациях МКБ (ICD)-11 [2] и DSM-V [3]. Фенотипы РНПР характеризуются когнитивными дисфункциями, дезорганизацией поведения, дефицитом социальных коммуникаций, которые присутствуют с раннего детства. Несмотря на интенсивные исследования, мозговые механизмы, лежащие в основе этих когнитивных и поведенческих нарушений, остаются недостаточно раскрытыми.

* Адресат для корреспонденции: 117997, Москва, ул. Остро-
влянова, д. 1; e-mail: zavadenko@mail.ru.

РНПР — гетерогенная группа заболеваний, обусловленных различными факторами этиологии и патогенеза, которые включают генетические механизмы, ранние повреждения развивающегося мозга, неблагоприятные внешние воздействия. Большинство форм РНПР манифестируют на ранних этапах развития и до того, как ребенок начинает обучение в школе. К наиболее распространенным РНПР, с которыми постоянно встречаются врачи различных специальностей, относятся нарушения развития речи и СДВГ.

Показано, что с РНПР ассоциированы многочисленные гены и мутации, что подтверждает гетерогенное происхождение этих расстройств. За последнее десятилетие ускорилась идентификация генов заболеваний, сопровождающихся РНПР, поскольку в повседневную практику входят технологии секвенирования всего экзона и генома [4–6]. Современные генетические исследования при РНПР способствуют идентификации путей функционирования критических протеинов и регуляторных путей, а также моделей пространственно-временной экспрессии генов, расширяя границы результатов применения этих методов от выявления моногенных мутаций у отдельных лиц до оценки полигенной предрасположенности и звеньев патогенеза РНПР в более широких популяциях пациентов. При этом следует учитывать, что многие случаи РНПР имеют в своей основе сложный мультифакториальный комплекс причин, а не какую-то одну очевидную причину, но общим результатом их неблагоприятного воздействия оказываются нарушения процессов нейроонтогенеза.

Генетические факторы являются важными предикторами исходов развития нервной системы, тогда как перинатальный период включает критические периоды восприимчивости к заболеваниям, когда мутации могут оказывать свое пагубное воздействие на нейроонтогенез [7]. Особенно важными “окнами восприимчивости” являются критические периоды детства, во время которых возможно совершенствование, доформирование церебральных структур и механизмов посредством обогащения сенсорного и социального опыта для наиболее оптимального развития восприятия и когнитивных функций [8]. Нарушения протекания этих критических периодов могут серьезно изменить траекторию развития и повысить риск возникновения РНПР [9]. Открытие того, что изменения в генах, связанных с развитием нервной системы, нарушают нейропластичность и приводят к фенотипам, характеризующимся РНПР, требует всестороннего изучения генов риска РНПР и их участия в механизмах нейропластичности [7].

Возрастная адаптационная пластичность ЦНС достаточно изучена в отношении речевых функ-

ций. Одностороннее поражение головного мозга с очаговым поражением его левого полушария вызывает афазии у взрослых, но не у младенцев и детей раннего возраста [10]. Хотя у детей с ранним поражением левого полушария и будут проявляться определенные речевые нарушения, существует общее мнение о поразительно менее выраженных нарушениях речевой функции, когда поражения возникают в раннем детстве.

В качестве генов, изменения которых могут определять нарушения развития речи, к настоящему времени идентифицированы: FOXP2 (в локусе 7q31), FOXP1 (3p14), CNTNAP2 (7q36), ATP2C2 (16q24), CMIP (16q24), SETBP1 (18q12.3), NRXN1 (2p13.3), TM4SF20 (2q36.3), SRPX2 (Xq22.1), KIAA0319 (6p22.2), DCDC2 (6p22.3), DYX1C1 (15q21.3), ROBO1 (3p12.3), DYX4 (6q11.2-q12), DYX5 (3p12-q13), DYX7 (15q21.3). Функции генов, задействованных в регуляции развития речи, включают: участие в процессах нейроонтогенеза, управление активностью других генов (каскадов генов), регуляцию тонких механизмов формирования комплексов структур головного мозга, обеспечивающих навыки речи и мелкой моторики, контроль процессов созревания нейронов и их миграции, синаптогенеза, внутри- и внеклеточной передачи сигналов, процессов транскрипции [11].

Другие факторы риска отставания в развитии речи включают неблагоприятные социально-экономические условия проживания семьи, низкий образовательный уровень родителей, депрессию у матери, мужской пол ребенка [12]. Среди перинатальных поражений ЦНС распространенным фактором риска становится недоношенность, поскольку в современном мире доля недоношенных новорожденных составляет 11.1% от всех живорождений в год [13]. Частота встречаемости отставания в речевом развитии среди детей, рожденных недоношенными, достигает 24–34% [14, 15], тогда как в общей детской популяции она в 3–4 раза ниже.

Проявления РНПР, претерпевая возрастную эволюцию, значительно нарушают нормальную жизнь и оказывают неблагоприятное влияние на различные функциональные сферы не только у детей, но также у подростков и взрослых. Нарастание симптомов у пациентов с РНПР в том или ином возрасте связано не с прогрессивностью изменений со стороны ЦНС, а с усилением трудностей адаптации при увеличении нагрузок, в том числе учебных, социальных, профессиональных. Поэтому в большинстве случаев они требуют многолетнего комплексного воздействия и применения фармакотерапии, перспективы которой прежде всего связываются с ноотропными препаратами.

Поскольку среди механизмов патогенеза РНПР рассматриваются нарушения процессов ней-

ропластичности [7, 8, 10, 16], их терапия должна быть направлена на восстановление и стимуляцию потенциала нейропластичности. Ноотропы — лекарственные средства различные по химическому составу и церебральным механизмам действия. Результаты исследований последних лет позволяют расширить традиционные представления о них, как о веществах, которые в первую очередь активируют когнитивные функции, такие как память и обучение, особенно в ситуациях, когда эти функции нарушены, за счет позитивного влияния на метаболизм нейронов клеток центральной нервной системы. По-видимому, ноотропы оказывают влияние на механизмы нейропластичности, что важно учитывать при их применении в терапии РНПР. В данной статье мы остановимся на результатах исследований последних лет, направленных на оценку эффективности ноотропов при наиболее распространенных формах РНПР — дисфазии развития и СДВГ.

Нейропластичность — процесс биологической адаптации, основанный на структурной и функциональной реорганизации ЦНС, направленный на восстановление нарушенных функций после повреждения мозга. В ее основе — модуляция функционирования нейронов, восстановление синаптической передачи, активация межнейронных связей, в том числе не задействованных ранее горизонтальных связей на уровне коры головного мозга. Нейропластичность может реализовываться на молекулярном, синаптическом, нейронном и мультимодульном уровнях (отдел мозга или мозг в целом). В разной степени активация нейропластичности сопровождается стимуляцией экспрессии определенных генов, биосинтезом молекул рецепторов и ионных каналов, филаментозных белков синаптического цитоскелета, нейромедиатора, компонентов синаптической мембраны, молекул межклеточной адгезии, образованием незрелых контактов, их созреванием, активацией, гипертрофией и реорганизацией активных синапсов [17]. Репаративная нейропластичность обеспечивает восстановление функциональных систем мозга после их повреждения и реализуется всем спектром повышения эффективности синаптического пула, от активации сохранившихся синапсов до неосинаптогенеза и роста нервных отростков — феномен синаптического спраунтинга [17].

Открытие нейротрофических пептидных факторов — специфических внутриклеточных нейрорегуляторных белков, играющих важную роль в процессах нейрорегенерации и нейрорепарации, послужило обоснованием для пептидургической нейротрофической терапии заболеваний ЦНС, в том числе РНПР. Определенные периоды течения различных форм РНПР, в том числе нарушений развития речи и СДВГ, могут сопровождаться дефицитом нейротрофинов [18, 19]. Установлено, что

нейропептидные ноотропные препараты, в частности Кортексин и Церебролизин, могут имитировать эффекты эндогенных нейротрофических факторов, защищающих мозг от ишемических повреждений и улучшающих нейропластичность [20].

ДИСФАЗИЯ РАЗВИТИЯ: ВОЗМОЖНОСТИ ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОЙ НООТРОПНОЙ ТЕРАПИИ

Развитие речи у детей может страдать при патологических процессах, затрагивающих специализированные речевые центры головного мозга и формирование связей как между ними, так и с другими отделами ЦНС (коннектома). Дисфазия развития (другие обозначения: специфическое расстройство развития речи, алалия) — одна из тяжелых и стойких форм патологии речи у детей, системное недоразвитие речи в результате поражения корковых речевых зон в доречевом периоде при сохранном слухе и интеллекте. Частота встречаемости в детской популяции — до 5–8% [21]. Наиболее часто встречающиеся варианты (экспрессивное и смешанное экспрессивно-импрессивное расстройства) проявляются запаздыванием развития экспрессивной речи по сравнению с развитием понимания.

Принципы лечения расстройств развития речи подразумевают активацию механизмов нейропластичности и включают: формирование оптимальной коммуникативной среды, обучение родителей/родственников игровому взаимодействию с ребенком, занятия со специалистом (индивидуально и в группе), медикаментозную терапию с включением ноотропных препаратов. Учитывая высокую частоту встречаемости отставания речевого развития в детской популяции и случаев неблагоприятного прогноза у этих пациентов, не вызывает сомнения необходимость исследований, направленных на поиск наиболее оптимальных терапевтических подходов в сенситивный для формирования речи период — возраст от 2.5 до 5 лет. Остановимся на результатах исследования терапевтической эффективности при дисфазии развития Кортексина — комплекса полипептидов и L-аминокислот массой от 1 до 10 кДа [22].

Цель исследования [22]: в процессе двухмесячного наблюдения оценить терапевтическую эффективность двух режимов терапии пептидургическим ноотропным препаратом Кортексин при дисфазии развития у 94 детей в возрасте от 3 лет до 4 лет 11 мес. на момент начала лечения. Дизайн исследования: открытое контролируемое сравнительное в трех группах пациентов. У всех пациентов был подтвержден диагноз “дисфазия развития” или “расстройство развития экспрессивной речи” — F 80.1 по МКБ-10. 94 ребенка с дисфазией развития были распределены на три группы. В 1-й группе (27 пациентов) проводился курс лече-

ния Кортексином: 1 раз в день внутримышечно ежедневно в течение 10 дней. После этого курса детям не назначалась лекарственная терапия, повторное обследование осуществлялось через 2 месяца от начала курса Кортексина. Во 2-й группе (40 пациентов) проведено два курса Кортексина с интервалом 1 месяц, дети также наблюдались в течение двух месяцев. 3-я контрольная группа (27 пациентов) не получала медикаментозной терапии, но также наблюдались в динамике в течение двух месяцев. Перед началом исследования родители всех пациентов получали одинаковые логопедические рекомендации по стимуляции речевого развития детей. Лечение и динамическое наблюдение проводились в амбулаторных условиях. Во время, до и после лечения Кортексином другая лекарственная терапия не назначалась. Родители всех пациентов, включенных в данное исследование, подписывали формы информированного согласия с подробным описанием его цели, процедуры, применяемых методов диагностики и лечения.

Перед началом лечения и через два месяца оценивали состояние речи детей по шкалам речевого развития и специальным опросникам для родителей. Ключевым показателем речевого развития является формирование активного словаря (или активного словарного запаса), в который включаются все употребляемые на момент обследования слова, которые ребенок не только хорошо понимает, но и использует во время общения с другими людьми. Именно активный словарь играет наиболее важную роль в реализации коммуникативной функции речи, а нормальное ее развитие характеризуется поступательным увеличением данного показателя. В дни 0 и 60 активный словарный запас определялся у пациентов по результатам заполнения родителями специальных форм, в которых они перечисляли все слова, которые говорит ребенок во время общения. На основании этих данных оценивалась динамика активного словаря по кратности прироста его объема за два месяца наблюдения. Кроме того, по специальным шкалам родители оценивали уровень развития у детей по сравнению с нормативами экспрессивной, импрессивной речи и речевое внимание (шкалы) (от 1 до 10 баллов).

Полученные результаты подтверждают более высокую эффективность двух курсов Кортексина, проведенных в течение двух месяцев, по сравнению с традиционным назначением одного курса, что подтверждалось наиболее значительным ростом активного словаря (в 2.8 раза) и количества произносимых фраз (в 4.2 раза) в этой группе по сравнению с группой пациентов, получивших один курс Кортексина (соответствующее увеличение составило 2.3 и 3.6 раза), при этом через два месяца стали значимыми ($p = 0.01$) различия в объеме активного словаря между этими группа-

ми. В 3-й (контрольной) группе кратность увеличения числа слов составила только 1.4, а фраз — 1.5 раза.

Одновременно по оценкам родителей при обоих режимах терапии подтверждено положительное влияние Кортексина, проявившееся в достоверном улучшении показателей экспрессивной речи, а также речевого внимания и импрессивной речи.

Таким образом, в настоящем исследовании раннее вмешательство проводилось у детей с дисфазией развития 3–4 лет не только с помощью предоставления родителям логопедических рекомендаций, но и фармакотерапии пептидергическим ноотропным препаратом Кортексин в виде одного или двух курсов по 10 ежедневных внутримышечных инъекций на протяжении двух месяцев. Полученные результаты позволяют сделать вывод о более высокой терапевтической эффективности двух курсов Кортексина.

Результаты данного и других исследований послужили обоснованием для проведения нового большого клинического исследования, одобренного Минздравом России, по протоколу “Многоцентровое двойное слепое плацебо контролируемое рандомизированное в параллельных группах исследование эффективности лекарственного препарата Кортексин, лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения, у детей с задержкой речевого развития”. В настоящее время готовится публикация по результатам данного исследования.

Нейропротекторные и нейрорегенеративные свойства Кортексина основаны на воздействии на систему нейротрофинов и, опосредованно, на нейропластичность, нейрогенез, дегенеративные изменения в нейронах [23, 24]. Потенциальные молекулярные механизмы нейропротективных свойств Кортексина разнообразны и касаются ключевых процессов, лежащих в основе нейропластичности: трансдукции сигнала, энергетического метаболизма, протеолитической модификации белков, структуры клеток головного мозга и связей между ними. Многокомпонентность препарата, в состав которого входит большое количество различных нейропептидов, потенциально определяет множественность его эффектов и одновременное воздействие на разные мишени. При этом подтвержденная тканеспецифичность установленных молекулярных механизмов создает основу для терапевтической эффективности Кортексина при церебральных повреждениях, [24] а его нейротрофическое действие и положительное влияние на нейропластичность могут реализовываться как во время терапии, так и продолжаться в течение какого-то времени после завершения курса лечения, что имеет большое

значение в плане относительной долгосрочности его эффектов на процессы нейроонтогенеза.

Экспериментально удалось идентифицировать четыре белка головного мозга, вступающие во взаимодействия с пептидами кортексина [25]. Выявленные молекулярные партнеры пептидов кортексина белки цитоскелета актин и мозгоспецифичная изоформа тубулина, мозгоспецифичные адапторный белок 14-3-3 и креатинкиназа — первые обнаруженные потенциальные первичные мишени препарата. Все эти белки вовлечены в принципиально важные для нейронов и организма в целом процессы. Известно, что актиновый цитоскелет регулирует важнейшие клеточные процессы в мозге, включая деление и пролиферацию, миграцию клеток, цитокинез и дифференцировку. Нейрон-специфичный белок тубулин $\beta 5$, компонент микротрубочек цитоскелета, является критическим для возникновения и созревания нейронов, их миграции, дифференцировки и встраивания в нервные сети. Белок 14-3-3 (альфа/бета) — важнейший адапторный белок мозга, взаимодействующий с большим числом белков, определяя их локализацию и функцию в клетке, и тем самым влияющий на разнообразные клеточные и физиологические процессы. Регулируя активность ферментов, защиту от дефосфорилирования белков, образование тройных комплексов и процессов секвестрирования, белок 14-3-3 участвует в патогенезе и осуществляет нейропротекторные функции при нейродегенеративных заболеваниях и других неврологических и психических патологиях. Если предположить, что связывание с пептидами кортексина модулирует активность креатинкиназы типа В, еще одного молекулярного партнера, выявленного в данном исследовании, то становится понятным позитивный эффект препарата на энергообеспечение ткани ЦНС [25].

Влияние кортексина на функционально-биохимическое состояние ЦНС осуществляется как за счет восстановления баланса между возбуждающими (аспартат, глутамин, глутаминовая кислота) и тормозными (ГАМК, серин, глицин) аминокислотами-нейромедиаторами, так и в результате действия содержащихся минеральных веществ, активирующих ферменты и регулирующих апоптоз, антиоксидантную систему, функциональное состояние дофаминовых, ацетилхолиновых нейрорецепторов [26]. данные его эффекты могут объяснять положительное терапевтическое действие Кортексина при СДВГ [27]. Определенным ограничивающим фактором является относительно короткая продолжительность такого курса лечения, тогда как фармакотерапия СДВГ должна быть значительно более продолжительной (от многих месяцев до нескольких лет).

СИНДРОМ ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ И ГИПЕРАКТИВНОСТИ (СДВГ): ДАННЫЕ НОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НООТРОПОВ

СДВГ — распространенная форма РНПР, которая затрагивает от 5 до 10% детского населения [28, 29]. Это нейроповеденческое расстройство характеризуется незрелостью управляющих функций мозга, невнимательностью, отвлекаемостью, гиперактивностью и импульсивностью. У некоторых пациентов преимущественно проявляются признаки либо гиперактивности, либо невнимательности, но у большинства прослеживаются обе группы симптомов. Данные симптомы имеют степень выраженности, превышающую ту, что можно было бы ожидать исходя из возраста ребенка и уровня его интеллектуального развития. Диагноз СДВГ подтверждается по клинически значимым нарушениям социально-психологической адаптации, которые проявляются в различных обстоятельствах, в том числе семье, школе, на досуге и в общественных местах. Основные проявления СДВГ часто сопровождаются трудностями обучения и проблемами поведения.

СДВГ — мультифакториальное заболевание, в основе которого лежат нейробиологические факторы: генетические механизмы и раннее органическое повреждение ЦНС в пре- и перинатальный периоды, которые могут сочетаться между собой. К числу генов, детерминирующих предрасположенность к развитию СДВГ (роль некоторых из них подтверждена, другие рассматриваются в качестве кандидатных), относятся гены, регулирующие обмен нейромедиаторов в мозге [28, 29].

Известно, что важными звеньями патогенеза СДВГ являются нарушения метаболизма нейромедиаторов дофамина и норадреналина, которые приводят к нарушениям внимания, когнитивных функций и уровня активности [28, 30]. СДВГ рассматривается, как заболевание с полигенной предрасположенностью, при котором одновременно существующие многочисленные нарушения процессов обмена нейромедиаторов обусловлены влияниями нескольких генов, перекрывающими защитное действие компенсаторных механизмов. С нейropsychологической стороны СДВГ рассматривается с позиций нарушений (незрелости) функций лобных долей головного мозга (особенно префронтальной области) — управляющих функций (поведенческого торможения и самоконтроля) [28, 29].

Некоторые из установленных локусов предрасположенности к СДВГ находятся в генах или рядом с генами, участвующими в процессах нейроонтогенеза. Так, в локусе хромосомы 7 ген *FOXP2* кодирует транскрипционный фактор, который, как известно, играет важную роль в формировании синапсов и нейронных механизмах,

опосредующих развитие речи и способностей к обучению [31]. Коморбидность СДВГ с специфическими расстройствами развития речи и трудностями обучения является распространенным явлением и теперь может быть объяснена с генетических позиций. На хромосоме 10 расположен ассоциированный с СДВГ ген SORCS3, который кодирует экспрессируемый мозгом трансмембранный рецептор, важный для развития и пластичности нейронов [31].

СДВГ требует комплексного подхода к лечению, которое включает методы поведенческой, педагогической и нейропсихологической коррекции, родительского тренинга, семейной психотерапии, а также медикаментозное лечение. В фармакотерапии СДВГ накоплен значительный опыт использования препаратов ноотропного ряда. Их применение при СДВГ патогенетически обосновано, поскольку ноотропные препараты оказывают стимулирующее действие на недостаточно сформированные у детей этой группы высшие психические функции (внимания, памяти, организации, программирования и контроля психической деятельности, речи, праксиса). Эффекты ноотропных препаратов полимодальны, связаны со стимулирующим влиянием на процессы тканевого метаболизма в нейронах, влиянием на нейромедиаторные системы, механизмы нейропластичности.

Учитывая терапевтический потенциал и благоприятный профиль безопасности препаратов ноотропного ряда, большое значение имеет проведение их клинических исследований при СДВГ, основанных на современных принципах доказательной медицины. За последние годы в Российской Федерации проведено несколько таких исследований (табл. 1).

В ряде современных публикаций [32–35] обращается внимание на то, что нарушения обмена катехоламинов при СДВГ сопровождаются образованием свободных радикалов, так как катехоламины легко окисляются; в результате нескольких этапов окисления развивается оксидантный стресс, и его продукты оказывают цитотоксическое действие на структуры мозга, дисфункция которых ответственна за формирование СДВГ; у пациентов с СДВГ прослеживается снижение общего антиоксидантного статуса (TAS, total antioxidant status), возрастание общего оксидантного стресса (TOS, total oxidative stress), а также индекса оксидантного стресса (OSI, oxidative stress index), представляющего соотношение TOS и TAS [32–35]. Поэтому в качестве потенциально эффективных средств фармакотерапии СДВГ рассматриваются препараты, действие которых направлено на снижение оксидантного стресса и защиту клеток мозга от свободных радикалов [36], к числу которых относится Мексидол (этилметил-

гидроксипиридина сукцинат). Основными его эффектами считаются антиоксидантный, антигипоксикантный и мембраностабилизирующий. Широкий спектр фармакологических эффектов препарата Мексидол реализуется, по меньшей мере, на двух уровнях — нейрональном и сосудистом. Благодаря сочетанию фармакологических свойств, Мексидол оказывает ноотропный, антиамнестический, анксиолитический эффекты [37].

Целью одного из представленных исследований [38] явилась оценка эффективности и безопасности двух режимов дозирования препарата Мексидол по сравнению с плацебо у детей с СДВГ в возрасте от 6 до 12 лет включительно (табл. 1). В многоцентровое (14 клинических центров) рандомизированное двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование были включены 333 мальчика и девочки с подтвержденным диагнозом СДВГ, которые были рандомизированы на 3 группы лечения в соотношении 1 : 1 : 1 в группы: Мексидол 125 мг 2 раза в день, Мексидол 125 мг день + Плацебо и группу Плацебо. Продолжительность лечения во всех группах составила 42 дня. Согласно полученным результатам, подтверждена не только превосходящая эффективность Мексидола над плацебо, но и более высокая терапевтическая эффективность назначения препарата по 125 мг 2 раза в день по сравнению с его однократным приемом [38].

Опубликованы результаты проспективного многоцентрового (4 клинических центра) сравнительного двойного слепого плацебо-контролируемого исследования в параллельных группах гопантеновой кислоты (Пантогама) в фармакотерапии СДВГ продолжительностью 4 месяца у 89 детей 6–12 лет [39]. Пантогам назначали в таблетках по 250 мг в терапевтической дозе 30 мг/кг массы тела ребенка, разделенной на два приема. За 4 месяца терапии Пантогам статистически значимо снижал тяжесть проявлений СДВГ по шкале общего клинического впечатления. Исходно тяжесть СДВГ оценивалась в диапазоне от 4 (умеренная) до 5 (выраженная степень тяжести), но уже через 1 месяц лечения Пантогамом — в диапазоне 2–3 балла (2 — минимальная, 3 — легкая) и оставались в том же диапазоне через 2, 3 и 4 месяца лечения. Одновременно эффективность Пантогама проявилась неуклонным ростом доли пациентов с положительным ответом на терапию: с 44.4% через 1 месяц лечения до 66.7% к окончанию 2-го месяца терапии и 72.2% — 3-го и 4-го месяцев. Значимый регресс основных симптомов СДВГ по шкале СДВГ-DSM-IV отмечался через 1 месяц лечения и продолжался на 2–4 месяцах лечения, сопровождаясь уменьшением по сравнению с показателями до лечения ($p < 0.01$) всех трех оценок: общего балла, баллов по симптомам “Нарушения внимания” и “Гиперактивность-импульсивность”. Кроме того, за 4 месяца лече-

Таблица 1. Исследования эффективности и безопасности ноотропных препаратов в терапии СДВГ у детей, основанные на современных принципах доказательной медицины

№ протокола, название исследования	Число и возраст пациентов, препарат, дозы, продолжительность приема	Основные результаты исследования
PHS-ADHD-002-MEX-TAB Многоцентровое двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое в трех параллельных группах клиническое исследование по оценке эффективности и безопасности препарата Мексидол таблетки, покрытые пленочной оболочкой 125 мг, в лечении СДВГ у детей 6–12 лет при различных режимах дозирования	333 пациента с СДВГ 6–12 лет рандомизированы на 3 группы лечения в соотношении 1 : 1 : 1: Мексидол по 125 мг 2 раза в день, Мексидол 125 мг день + Плацебо и группу Плацебо. Продолжительность лечения во всех группах составила 42 дня	Доказана превосходящая эффективность препарата Мексидол над плацебо. Получены значимые изменения суммы общего балла по субшкалам “невнимательность”, “гиперактивность/импульсивность” шкалы SNAP-IV через 6 недель терапии во всех трех группах исследования ($p < 0.05$). При этом между группами Мексидол 125 мг + Плацебо и Плацебо, а также между группами Мексидол 125 мг 2 раза в день и Плацебо наблюдались выраженные статистически значимые различия. По вторичным критериям эффективности также выявлены статистически значимые отличия результатов терапии Мексидолом от Плацебо: изменениям по шкале ADHD-RS-IV, оценкам по шкале общего клинического впечатления степени тяжести СДВГ (CGI-ADHD-S), оценкам по шкале общего клинического впечатления – улучшение (CGI-I). Схема лечения препаратом Мексидол 125 мг 2 раза в день показала свое преимущество перед схемой 125 мг 1 раз в день [38]
№ 2011-ПАН-01 Проспективное многоцентровое сравнительное двойное слепое плацебо-контролируемое в параллельных группах клиническое исследование эффективности и безопасности лекарственного препарата Пантогам, таблетки 250 мг, в терапии СДВГ у детей от 6 до 12 лет	89 пациентов с СДВГ 6–12 лет, завершивших исследование, вошли в две группы: 45 в группе Пантогам (1-я группа) и 44 в группе Плацебо (2-я группа). Пантогам назначали в таблетках по 250 мг в терапевтической дозе 30 мг/кг массы тела ребенка, разделенной на два приема, в течение 4 мес.	Эффективность пантогама при СДВГ в сравнении с плацебо проявилась выраженной тенденцией к увеличению доли пациентов с положительной динамикой (уменьшением общего балла по шкале ADHD-DSM-IV более чем на 25%) к окончанию 3-го и 4-го мес. терапии: ответ на лечение достигался у 66.7 и 68.9%, соответственно, а в группе Плацебо – у 52.3 и 61.4%. Одновременно при лечении Пантогамом статистически значимо снижалась тяжесть заболевания по шкале CGI-S, по сравнению с плацебо. Через 4 мес. терапии Пантогамом в сравнении с Плацебо уменьшилась выраженность функциональных нарушений по 4 из 6 разделов шкалы WFIRS-P: “Семья”, “Учеба и школа”, “Самооценка ребенка” и “Поведение, сопряженное с риском”. Пантогам улучшал у детей с СДВГ показатели поддерживаемого внимания в тесте Тулуз–Пьерона (качество и скорость выполнения) в сравнении с плацебо [39]

Таблица 1. Окончание

№ протокола, название исследования	Число и возраст пациентов, препарат, дозы продолжительность приема	Основные результаты исследования
ММН-МАР-004 Многоцентровое двойное слепое плацебо-контролируе- мое рандомизированное клиническое исследование в параллельных группах эффективности и безопасно- сти применения препарата Проспекта в лечении СДВГ у детей	363 пациента с СДВГ в возрасте от 7 до 12 лет рандомизированы на 2 группы в соотношении 1 : 1. В течение 8 недель пациенты группы 1 принимали препа- рат Проспекта по 1 таблетке 2 раза в день; пациенты группы 2 получали Плацебо по схеме исследуемого препарата	Доля пациентов со снижением общего балла шкалы ADHD-RS-V на 25% и более через 8 недель лечения в группе Проспекта составила 55.9%, в группе Плацебо – 43.3% ($p = 0.0199$). В группе Проспекта наблюдалось уменьшение выраженности симптомов СДВГ в виде снижения среднего балла по шкале ADHD-RS-V на 10.2 ± 7.7 балла (в группе Плацебо на 8.1 ± 7.9 балла); разница между снижением значений среднего балла по шкале ADHD-RS-V на фоне терапии препаратами Проспекта и Плацебо составила 2.09 ± 7.81 баллов ($p = 0.0096$). Средние значения итогового индекса CGI-EI на основании оценок врачей-исследователей в группе Проспекта отличались от Плацебо – 6.9 ± 3.2 баллов против 8.0 ± 3.1 баллов ($p = 0.0012$), что свидетельствовало о клинической эффективности препарата [41]

ния Пантогамом в сравнении с плацебо снижа-
лась выраженность функциональных нарушений
по шкалам WFIRS-P, особенно по разделам “Са-
мооценка ребенка” и “Поведение, сопряженное с
риском” (табл. 1) [39].

Гопантенная кислота — естественный мета-
болит ГАМК в нервной ткани. В отличие от
ГАМК, проникает через гемато-энцефалический
барьер, практически не метаболизируется орга-
низмом, и ее фармакологические эффекты обу-
словлены действием целой молекулы, а не от-
дельных фрагментов. Изучались нейрорецептор-
ные и поведенческие эффекты пантогама на
модели дефицита внимания в тесте “закрытый
обогащенный крестообразный лабиринт” у ау-
тбредных мышей CD-1 (субпопуляции с выражен-
ным дефицитом внимания) после субхрониче-
ского введения препарата (100 мг/кг/день, внут-
рибрюшинно, в/бр.) в сравнении с влияниями
атомоксетина гидрохлорида (3 мг/кг/день, в/бр.),
который обладает высокой клинической эффек-
тивностью при СДВГ [40]. В префронтальной ко-
ре экспериментальных животных с использо-
ванием метода радиолигандного связывания обна-
ружены различия: пантогам вызывал уменьшение
значений $B_{\max}$ дофаминовых D2-рецепторов на
22% ($p < 0.05$) и увеличение на 44% для ГАМКВ-
рецепторов ($p < 0.05$), а атомоксетин — лишь сни-
жение $B_{\max}$ D2-рецепторов на 14%. При этом суб-
хроническое введение препаратов в выбранных
дозах приводило к сходному влиянию на поведе-

ние опытных групп животных и увеличению зна-
чений индекса распознавания новых объектов ($p < 0.005$) [40]. Таким образом, пантогам оказывал
избирательное корректирующее действие на по-
казатели поведения и плотность изучаемых под-
типов рецепторов у животных с выраженным де-
фицитом внимания.

В третье многоцентровое (35 клинических
центров) двойное слепое плацебо-контролируе-
мое рандомизированное клиническое исследова-
ние в параллельных группах включили 363 паци-
ентов в возрасте от 7 до 12 лет с диагнозом СДВГ
и общим баллом 22 и более по шкале ADHD-RS-V
[41]. После рандомизации пациенты группы 1
принимали препарат Проспекта по 1 таблетке 2
раза в день; пациенты группы 2 получали Плаце-
бо по схеме исследуемого препарата (табл. 1). За
первичный критерий оценки эффективности
принималось снижение общего балла по шкале
ADHD-RS-V на 25% и более через 8 недель лече-
ния. Доля пациентов со снижением общего балла
шкалы ADHD-RS-V на 25% и более через 8 не-
дель лечения в группе Проспекта составила 55.9%, в
группе плацебо — 43.3% ($p = 0.0199$). В группе
Проспекта наблюдалось уменьшение выражен-
ности симптомов СДВГ в виде снижения средне-
го балла по шкале ADHD-RS-V на 10.2 ± 7.7 балла
(в группе плацебо — на 8.1 ± 7.9 балла); разница
между снижением значений среднего балла по
шкале ADHD-RS-V на фоне терапии препаратом

Проспекта и плацебо составила 2.09 ± 7.81 балла ($p = 0.0096$).

Таким образом, в многоцентровом двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании подтверждена терапевтическая эффективность и безопасность применения препарата Проспекта в терапии СДВГ у детей. Будучи одним из представителей препаратов с активным компонентом в виде технологически обработанных антител, способных вызывать конформационные изменения молекулы-мишени [42], в том числе за счет влияния на гидратные оболочки белков [43], Проспекта модифицирует функциональную активность мозгоспецифического белка S100, улучшает интегративную деятельность головного мозга, воздействует на нейромедиаторные системы [44]. Терапевтическая активность препарата Проспекта у детей с СДВГ может быть объяснена положительным влиянием на обменные процессы в ЦНС, что способствует созреванию тормозных и активирующих регуляторных систем головного мозга ребенка. Эффект препарата в течение 8-недельного курса лечения реализуется за счет его ноотропного действия.

Итак, во всех трех проведенных клинических исследованиях (табл. 1) подтверждена терапевтическая эффективность ноотропных препаратов при СДВГ. Одновременно результаты статистического анализа частоты возникновения нежелательных явлений, показателей лабораторных анализов, физического обследования пациентов показали отсутствие значимых различий с группами плацебо по основным показателям безопасности. Таким образом, продемонстрирован сопоставимый с плацебо профиль безопасности ноотропов.

Симптомы СДВГ и сопутствующие трудности социально-психологической адаптации к подростковому возрасту сохраняются у 75%, ко взрослому — у 50% пациентов [29]. Тем самым течение СДВГ во многих случаях принимает длительный, многолетний характер. Следовательно, решающее значение имеют ранняя диагностика и своевременное проведение лечебных мероприятий в оптимальные возрастные периоды.

Учитывая это, необходимо продолжение активных исследований динамических процессов, связанных с ремоделированием нейронных связей в развивающемся мозге и нейропластичностью — свойством ЦНС, которое отвечает за процессы обучения, памяти, саморегуляции и адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. Функциональные и структурные адаптационные перестройки, связанные с нейропластичностью, не являются изолированными событиями, поскольку и те, и другие происходят постоянно и одновременно. Получены доказательства того, что структурная и функциональная пластичность является важной

физиологической основой для обучения, механизмов памяти и адаптации [45, 46].

Кроме того, значительные перспективы имеют новые исследования механизмов действия различных ноотропных препаратов, связанных с их влияниями на нейропластичность. Нейропластичность может реализовываться на молекулярном, синаптическом, нейронном и мультимодальном уровнях (отдел мозга или мозг в целом) [17]. Развивающийся мозг обладает высокой нейропластичностью и значительными резервными возможностями, которые обеспечивают способность элементов нервной ткани к адаптивной перестройке и компенсаторные (восстановительные) возможности мозга.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Boivin M.J., Kakooza A.M., Warf B.C., Davidson L.L., Grigorenko E.L. // *Nature*. 2015. V. 527 (7578). S. 155–160. <https://doi.org/10.1038/nature16029>
2. World Health Organization. International statistical classification of diseases and related health problems (11th ed.). 2019. <https://icd.who.int/>.
3. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition (DSM-V) / Arlington, VA: American Psychiatric Association, 2013. 947 p.
4. Morris-Rosendahl D.J., Crocq M.A. // *Dialogues Clin. Neurosci.* 2020. V. 22(1). P. 65–72. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.1/macrocq>
5. Arnett A.B., Wang T., Eichler E.E., Bernier R.A. // *J. Neurodevelopmental Disorders*. 2021. V. 13(1). № 24. <https://doi.org/10.1186/s11689-021-09371-4>
6. Parenti I., Rabaneda L.G., Schoen H., Novarino G. // *Trends in Neurosciences*. 2020. V. 43(8). P. 608–621. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.05.004>
7. Smith M.R., Glicksberg B.S., Li L., Chen R., Morishita H., Dudley J.T. // *Proc. Symp. Biocomput.* 2018. V. 23. P. 68–79.
8. Neville H., Bavelier D. // *Prog. Brain Res.* 2002. V. 138. P. 177–188. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(02\)38078-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(02)38078-6)
9. Meredith R.M. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. V. 50. P. 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.001>
10. Rapoport J.L., Gogtay N. // *Neuropsychopharmacology*. 2008. V. 33(1). P. 181–197. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301553>

11. Заваденко Н.Н., Холин А.А., Заваденко А.Н., Мичурина Е.С. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. Т. 118. № 8. С. 118–125. <https://doi.org/10.17116/jnevro2018118081118>
12. Collisson B.A., Graham S.A., Preston J.L., Sarah Rose M., McDonald S., Tough S. // J. Pediatr. 2016. V. 172. P. 168–174. e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.02.020>
13. Vogel J.P., Chawanpaiboon S., Moller A.B., Watananirun K., Bonet M., Lumbiganon P. // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. 2018. V. 52. P. 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.04.003>
14. Sansavini A., Guarini A., Justice L.M., Savini S., Broccoli S., Alessandroni R., Faldella G. Early Human Dev. 2010. V. 86. № 12. P. 765–772. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2010.08.014>
15. Barre N., Morgan A., Doyle L.W., Anderson P.J. // The Journal of Pediatrics. 2011. V. 158. № 5. P. 766–774. e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.10.032>
16. Ismail F.Y., Fatemi A., Johnston M.V. // Eur. J. Paediatr. Neurol. 2017. V. 21. № 1. P. 23–48. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2016.07.007>
17. Боголепова А.Н., Чуканова Е.И. // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2010. Т. 110. № 8. С. 62–65.
18. Tsai S.J. // Cytokine Growth Factor Rev. 2017. V. 34. P. 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.11.003>
19. Bilgiç A., Ferahkaya H., Kiliç İ., Energin V.M. // Noro Psikiyat. 2021. V. 58. № 2. P. 128–132. <https://doi.org/10.29399/npa.27274>
20. Kurkin D.V., Bakulin D.A., Morkovin E.I., Kalatanova A.V., Makarenko I.E., Dorotenko A.R., Kovalev N.S., Dubrovina M.A., Verkholyak D.V., Abrosimova E.E., Smirnov A.V., Shmidt M.V., Tyurenkov I.N. PLoS One. 2021. V. 16. № 7. e0254493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254493>
21. Law J., Dennis J.A., Charlton J.J.V. // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2017. Issue 1. Art. № CD012490.
22. Заваденко Н.Н., Давыдова Л.А., Суворинова Н.Ю. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020. Т. 120. № 10. С. 38–44. <https://doi.org/10.17116/jnevro202012010138>
23. Гомазков О.А. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015. Т. 115. № 8. С. 99–104. <https://doi.org/10.17116/jnevro20151158199-104>
24. Гуляева Н.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. Т. 118. № 10. С. 93–96. <https://doi.org/10.17116/jnevro201811810193>
25. Яковлев А.А., Гуляева Н.В. // Нейрохимия. 2017. Т. 34. № 1. С. 91–96. <https://doi.org/10.7868/S1027813316040166>
26. Демченко А.В., Беленичев И.Ф. // Нейрохимия. 2016. Т. 10. № 1. С. 64–68. <https://doi.org/10.7868/S1027813316010052>
27. Чутко Л.С., Сурушкина С.Ю. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020. Т. 120. № 2. С. 120–124. <https://doi.org/10.17116/jnevro2020120021120>
28. Заваденко Н.Н. // Гиперактивность и дефицит внимания в детском возрасте. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Юрайт, 2019, 274 с.
29. Wolraich M.L., Hagan J.F., Allan C., Chan E., Davison D., Earls M., Evans S.W., Flinn S.K., Froehlich T., Frost J., Holbrook J.R., Lehmann C.U., Lessin H.R., Okechukwu K., Pierce K.L., Winner J.D., Zurhellen W. // Pediatrics. 2019. V. 144. № 4. e20192528. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-2528>
30. Banaschewski T., Becker K., Döpfner M., Holtmann M., Rösler M., Romanos M. // Dtsch. Ärztebl. Int. 2017. V. 114. P. 149–159. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2017.0149>
31. Demontis D., Walters R.K., Martin J. et al. // Nat. Genet. 2019. V. 51. P. 63–75. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0269-7>
32. Joseph N., Zhang-James Y., Perl A., Faraone S.V. // J. Atten. Disord. 2015. V. 19. № 11. P. 915–924. <https://doi.org/10.1177/1087054713510354>
33. Nasim S., Naeini A.A., Najafi M., Ghazvini M., Hassan-zadeh A. // Int J Prev Med. 2019. V. 10. P. 41. https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_80_18
34. Corona J.C. // Antioxidants (Basel). 2020. V. 9. № 11. 1039. <https://doi.org/10.3390/antiox9111039>
35. Alvarez-Arellano L., González-García N., Salazar-García M., Corona J.C. // Antioxidants (Basel). 2020. V. 9. № 2. 176. <https://doi.org/10.3390/antiox9020176>
36. Curpan A.S., Luca A.C., Ciobica A. // Oxid. Med. Cell. Longev. 2021. P. 6640206. <https://doi.org/10.1155/2021/6640206>
37. Шулькин А.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2018. Т. 118. № 12. Вып. 2. С. 87–93. <https://doi.org/10.17116/jnevro201811812287>
38. Заваденко Н.Н., Суворинова Н.Ю., Батышева Т.Т., Быкова О.В., Платонова А.Н., Гайнетдинова Д.Д., Левитина Е.В., Машин В.В., Вакула И.Н., Максимова Н.Е. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2022. Т. 22. № 4. С. 75–86. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212204175>
39. Заваденко Н.Н., Суворинова Н.Ю., Вакула И.Н., Малинина Е.В., Кузенкова Л.М. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2017. Т. 117. № 5. С. 39–45. <https://doi.org/10.17116/jnevro20171175139-45>
40. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М. // Биомедицинская химия. 2021. Т. 67. Вып. 5. С. 402–410. <https://doi.org/10.18097/PBMC20216705402>
41. Заваденко Н.Н., Макушкин Е.В., Гайнетдинова Д.Д., Колоколов О.В., Малинина Е.В., Антипенко Е.А., Сагундинова Э.Ш., Халецкая О.В., Дмитриев А.В., Маслова Н.Н., Машин В.В., Пантелеева М.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2022. Т. 22. № 11. С. 62–68. <https://doi.org/10.17116/jnevro202212211162>

42. Tarasov S.A., Gorbunov E.A., Don E.S., Emelyanova A.G., Kovalchuk A.L., Yanamala N., Schleker A.S.S., Klein-Seetharaman J., Groenestein R., Tafani J.P., van der Meide P., Epstein O.I. // *The Journal of Immunology*. 2020. V. 205. № 5. P. 1345–1354.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000098>
43. Woods K.N. // *Scientific Reports*. 2021. V. 1. № 1. P. 13774.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-93326-1>
44. Khacheva K.K., Khakimova G.R., Glazunov A.B., Fateeva V.V. / In Kalinin V.V., Hocaoglu C., Mohamed S. (Eds.), *Anxiety Disorders – The New Achievements* // IntechOpen. 2021.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.92207>
45. Keller T.A., Just M.A. // *Neuroimage*. 2016. V. 125. P. 256–266.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.10.015>
46. Vértes P., Bullmore E. // *Journal of Child Psychology & Psychiatry*. 2015. V. 56. № 3. P. 299–320.
<https://doi.org/10.1111/jcpp.12365>

Neurodevelopmental Disorders in Children: Neuroplasticity and Possibilities of Nootropic Pharmacotherapy

N. N. Zavadenko

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Neurodevelopmental Disorders (NDD) are characterized by disturbances of the formation of cognitive functions, communication skills, behavior characteristics and / or motor skills, which are caused by abnormalities in the course of the processes of neuroontogenesis. Factors of the etiology and pathogenesis of NDD include genetic mechanisms, early damage to the developing brain, and adverse external influences. Most forms of NDD manifest themselves in the early stages of development and before the child begins school education. The most common NDD, with which medical doctors of various specialties constantly meet, include speech development disorders and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). Since disorders of neuroplasticity processes are considered among the mechanisms of the NDD pathogenesis, their therapy should be aimed at restoring and stimulating the neuroplasticity potential. Manifestations of NDD, undergoing age-related evolution, significantly disrupt normal life and have an adverse effect on various functional areas not only in children, but also in adolescents and adults. The increase in symptoms in patients with NDD at one age or another is not due to the progressive nature of cerebral changes, but to increased difficulties of adaptation with increasing loads, including educational, social, professional ones. Therefore, in most cases, they require many years of complex management and the use of pharmacotherapy, the prospects of which are primarily associated with nootropic drugs. The data of new studies on the effectiveness of nootropics in developmental dysphasia and ADHD are discussed, and possible mechanisms of the nootropics influence on neuroplasticity processes are considered.

Keywords: neurodevelopmental disorders, neuroplasticity, developmental dysphasia, attention deficit hyperactivity disorder, pharmacotherapy, nootropic drugs

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 616.858:615.214

ОБЩИЕ И СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СЕЛАНКА, НООПЕПТА И СЕМАКСА НА ГЛИЦИНОВЫЙ САЙТ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ МОЗГА МЫШЕЙ BALB/c И C57Bl/6

© 2023 г. Е. В. Васильева¹, А. А. Абдуллина¹, Г. И. Ковалёв¹, *

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 18.11.2022 г.

После доработки 08.12.2022 г.

Принята к публикации 09.12.2022 г.

Проведено сравнение эффектов ноотропных препаратов пептидной природы селанка (300 мкг/кг/день), ноопепта (1 мг/кг/день) и семакса (0.6 мг/кг/день) на связывание лиганда ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов [³H]-MDL105.51 после субхронического в/б и и/н введений мышам инбредных линий BALB/c и C57Bl/6. Установлено, что у мышей C57Bl/6 исходное содержание глициновых мест связывания ($B_{\max}$) в коре мозга на 15% выше, а в гиппокампе на 47% меньше, чем у мышей BALB/c. В коре мозга применение и/н пути введения селанка, ноопепта и семакса приводило к уменьшению мест связывания глицина у мышей BALB/c на 18, 19 и 66%, а у мышей C57Bl/6 — на 53, 49 и 66% соответственно. В гиппокампе в результате и/н введения селанка, ноопепта и семакса изменения отмечались лишь у линии BALB/c — плотность мест связывания [³H]-MDL105.51 увеличивалась на 15, 63 и 95% соответственно. После в/б введения снижение наблюдалось только под влиянием селанка и семакса: в коре мышей BALB/c на 24 и 40%, в гиппокампе — на 11 и 19%, тогда как у мышей C57Bl/6 — на 15 и 47% в коре и на 45 и 24% в гиппокампе. Ноопепт в этих условиях был неэффективен. Однонаправленное влияние пептидов при в/б и и/н введениях в коре мозга у обеих линий может говорить об участии ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов коры в проявлении общих фармакологических эффектов на мышах BALB/c и C57Bl/6. Напротив, специфичность влияния селанка, ноопепта и семакса при и/н введении в гиппокампе у линии мышей BALB/c может быть связана с механизмом проявления ноотропной и анксиолитической активностей изучаемых пептидов именно у этой линии мышей.

Ключевые слова: селанк, ноопепт, семакс, BALB/c, C57Bl/6, префронтальная кора, гиппокамп, NMDA-рецепторы, глициновый сайт, [³H]-MDL105,519

DOI: 10.31857/S1027813323020176, **EDN:** UDCZGN

ВВЕДЕНИЕ

Селанк, семакс, ноопепт относятся к ноотропным препаратам пептидной природы, при этом они оказывают также нейропротективные и анксиолитические свойства. Проявляя общие фармакологические эффекты, эти пептиды обладают различиями в фармакокинетике и фармакодинамике, что указывает на наличие специфических для каждого свойств [1–3]. Несмотря на то, что селанк, семакс и ноопепт уже доступны на фармацевтическом рынке, причем первые два в виде назальных капель, а последний — в виде таблеток, нейрорецепторный механизм их действия до сих пор не полностью известен.

Ранее нами было показано, что ноопепт, селанк и семакс избирательно проявляют на мышах

линии BALB/c, обладающих исходным дефицитом когнитивной функции и повышенным уровнем тревожности в неинвазивном тесте “закрытый крестообразный лабиринт”, как ноотропный, так и анксиолитический эффект [4, 5], причем первый компонент преобладает при интраназальном введении, тогда как второй — при внутрибрюшинном [6]. Следует отметить, что данные эффекты развиваются лишь в результате неоднократного введения ноотропов [7, 8].

Далее для изучения механизмов полученных эффектов нами было исследовано влияние селанка, ноопепта и семакса при в/б и и/н введениях на глутаматные (NMDA- и mGluII) и ГАМК_A-рецепторы, участвующие в формировании ноотропной и анксиолитической активностей у мышей линий BALB/c и C57Bl/6 [9–11]. Было обнаружено, что при обоих путях поступления веществ в мозг происходит их воздействие на ГАМК_A-рецепторы моз-

* Адресат для корреспонденции: 125315 Москва, ул. Балтийская, 8; e-mail: kovalev@academpharm.ru, msvb2006@yandex.ru.

га, более выраженное в результате в/б у мышей BALB/c. В этой связи было предположено, что эти рецепторы участвуют в проявлении анксиолитической активности пептидов.

Напротив, в отношении глутаматных рецепторов были получены разнонаправленные эффекты пептидов, что не позволило прийти к однозначным выводам о роли этих рецепторов в проявлении фармакологической активности селанка, ноопепта и семакса, в связи с чем потребовались дальнейшие исследования в данном направлении [6, 12, 13].

В настоящей работе для расширения изучения механизма действия исследуемых пептидных препаратов в качестве потенциальной мишени был выбран глициновый сайт NMDA-рецепторов. Глицинсвязывающие модули локализованы на GluN1 и GluN3 субъединицах NMDA-рецепторов. Глицин связывается с сайтом и увеличивает проницаемость мембраны для ионов Na^+ . Активация глицинового сайта необходима для нормального функционирования глутаматного рецептора: без небольшого количества глицина глутамат не сможет вызвать деполяризацию клеточной мембраны и соответственно вызвать стимулирующий эффект на клетку [14, 15]. Известно, что нарушения в функционировании GluN1 субъединицы NMDA-рецепторов в медиальной префронтальной коре и гиппокампе играют важную роль в развитии когнитивных и социальных дефицитов, связанных с рядом психических заболеваний таких как аутизм, аффективное расстройство и шизофрения [16]. Помимо этого, имеются данные по участию вышеупомянутой субъединицы в регуляции тревожного поведения [17].

В связи с вышесказанным целью работы стало сопоставление эффектов внутрибрюшинного и интраназального введений селанка, ноопепта и семакса на специфическое связывание лиганда ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов [^3H]-MDL105,519 мембранами префронтальной коры и гиппокампа мышей BALB/c и C57BL/6.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Исследования проводили на самцах мышей линий BALB/c и C57BL/6 массой 25–30 г (питомник “Столбовая”), которых содержали в виварии ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова” в стандартных условиях со свободным доступом к воде и корму *ad libitum*, по 15 особей в клетке в течение 1-й недели до начала эксперимента, на стандартной диете при 12-ти часовом световом режиме. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351.000.3-96 и 51000.4-96), приказу Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 года

“Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

Животным посредством в/б и и/н (10 мкл, с использованием микропипетки фирмы Eppendorf) инъекций в течение 5 дней (субхроническое введение) ежедневно один раз в сутки вводили физиологический раствор (контрольная группа – NaCl, 0.9%), либо препараты, растворенные в физрастворе (опытные группы). Мышей декапитировали сразу после испытания в тесте “закрытый крестообразный лабиринт”, подробно описанный ранее [6], головной мозг извлекали на льду, выделяли префронтальную кору и гиппокамп по общепринятой схеме [18] и сохраняли при -80°C для последующего проведения радиолигандного анализа.

Вещества. В экспериментах использовали дозу селанка (ЗАО ИНПЦ “Пептоген”, ИМГ РАН) 300 мкг/кг/день, ноопепта (синтезирован в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”) 1 мг/кг/день, семакса (ЗАО ИНПЦ “Пептоген”, ИМГ РАН) 0.6 мг/кг/день, которые проявляют как ноотропный, так и анксиолитический эффекты [12, 19]. Для изучения рецепторного связывания применяли [^3H]-MDL105,519 (PerkinElmer) – селективный антагонист глицинового сайта NMDA-рецепторов. Остальные реактивы приобретены в коммерческих источниках.

Выделение плазматических мембран с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга. Приготовление мембранных препаратов, содержащих NMDA-рецепторы коры и гиппокампа мозга проводили по модифицированной методике [20]. После декапитации ткань немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературном холодильнике при -80°C . В день эксперимента префронтальную кору размельчали в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло” в 20 объемах ледяного буфера (0.32 М сахараза; pH 8.0). Гомогенат центрифугировали в ультрацентрифуге “Optima L-70K” (Beckman Coulter) в течение 10 мин при 1000 g. Супернатант повторно центрифугировали при 20000 g в течение 20 мин. Образовавшийся осадок ресуспендировали в 20 мл холодной дистиллированной воды и оставляли во льду на 7–10 мин, после чего центрифугировали при 8000 g 20 мин. Полученный супернатант вместе с поверхностным мягким слоем осадка переносили в чистую пробирку и повторно центрифугировали при 48000 g 20 мин. Осадок суспендировали в 0.05 М Tris-citrate буфере (pH 8.0) и центрифугировали 48000 g 20 мин, последнюю процедуру повторяли еще раз. В ходе получения мембран все этапы центрифугирования проводились при 4°C . Полученную мембранную фракцию заморажива-

ли и хранили при -80°C . В день эксперимента мембраны суспендировали в 40 объемах 0.05 М Tris-citrate буфера (pH 8.0) и центрифугировали при 48000 g 20 мин. Полученный осадок суспендировали в необходимом объеме буфера и использовали в эксперименте.

Радиолигандный анализ NMDA-рецепторов (глициновый сайт). Инкубационная смесь (конечный объем 0.5 мл) содержала 50 мкл $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 (удельная активность 72 Кюри/ммоль), 250 мкл буфера и 200 мкл белковой суспензии мембран, для неспецифического связывания добавляли 50 мкл немеченного лиганда. Реакционную смесь инкубировали при 4°C в течение 45 мин.

Жидкостно-сцинтилляционная спектрометрия. По окончании инкубации пробы фильтровали через стекловолкнистые фильтры GF/C (Whatman), предварительно смоченные в 0.3% полиэтиленимине в течение 2 ч при комнатной температуре. Каждую пробирку промывали два раза холодным буфером, затем фильтры промывали два раза тем же объемом буфера. Фильтры просушивали на воздухе и переносили в сцинтилляционные флаконы. Фильтры заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости на основе толуола (4 г РРО, 0.2 г РОРОР на 1 л толуола). Радиоактивность проб определяли на счетчике Tri-Carb 2900TR (Perkin Elmer) с эффективностью счета 42–46%. Концентрацию белка измеряли по стандартной методике Лоури (1951).

Для обработки результатов радиолигандного связывания использовали программу GraphPad Prism 8 и Statistica 6.0. Результаты представлены в виде “mean $\pm$ SEM”.

Обработка и представление результатов. В экспериментах *in vitro* величину IC_{50} по отношению к связыванию меченых лигандов определяли при добавлении в инкубационную среду 50 мкл исследуемого соединения в конечных концентрациях в диапазоне 10^{-9} – 10^{-4} М. Объем инкубационной смеси составлял 500 мкл. Результаты экспериментов по радиорецепторному связыванию *ex vivo* оценивали с помощью рассчитанных величин K_d и B_{max} , которые отражают степень сродства рецептора к лиганду (нМ) и количество мест связывания лиганда (фмоль/мг белка), соответственно. Для анализа насыщения и получения характеристик связывания B_{max} и K_d измеряли специфическое связывание для NMDA-рецепторов — от 5 до 40 нМ. Специфическое связывание рассчитывали, как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Для построения кривых вытеснения и насыщения радиоактивных лигандов каждая концентрация исследуемого вещества была взята в 3-х повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты по радиорецепторному связыванию представлены на рис. 1–3 и в табл. 1. На начальной стадии экспериментов было изучено влияние трех пептидов на рецепторное связывание методом вытеснения специфического лиганда глицинового сайта NMDA-рецепторов $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 в условиях *in vitro*. Ни один из пептидов не конкурировал за места связывания лиганда в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-9} М, что свидетельствует об отсутствии у них структурного сродства к местам связывания глицинового сайта NMDA-рецептора коры и гиппокампа мышей линий BALB/c и C57Bl/6, величины IC_{50} составили >100 мкмоль/л.

По результатам радиолигандного анализа *ex vivo* изначально у intactных мышей C57Bl/6 уровень мест связывания глицина в NMDA-рецепторах коры мозга оказался выше на 15%, чем у intactных мышей BALB/c. В гиппокампе обнаружилось обратное: плотность глициновых рецепторов мышей BALB/c была на 47% больше, чем у мышей C57Bl/6. Субхроническое введение пептидов во всех экспериментальных группах не изменяло константы диссоциации (K_d) в связывании $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 с ГЛИ-сайтом NMDA-рецепторов, но привело к значимым изменениям параметра B_{max} практически во всех опытных группах.

Селанк в коре при в/б введении у мышей линии BALB/c снижал величину B_{max} на 24%, у мышей линии C57Bl/6 — на 25%, при и/н введении у BALB/c — на 18%, у C57Bl/6 — на 53%. В гиппокампе при в/б введении у BALB/c селанк уменьшал B_{max} на 11%, у C57Bl/6 — на 45%, а при и/н — у BALB/c увеличивал на 15% (*t*-тест, $p < 0.05$), не имея эффекта у C57Bl/6. Ноопепт как в коре, так и в гиппокампе при в/б введении не оказывал влияния на рецепторные характеристики у обеих линий мышей; при и/н введении в коре — понижал плотность рецепторов у линии BALB/c — на 19%, у C57Bl/6 — на 49%, а в гиппокампах мышей BALB/c увеличивал плотность рецепторов на 63% (*t*-тест, $p < 0.05$) без воздействия на параметры связывания $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 у C57Bl/6.

Семакс в коре при в/б введении у мышей линии BALB/c снижал количество мест связывания глицина на 40%, у мышей линии C57Bl/6 — на 47%, а при и/н введении у BALB/c — на 66%, у C57Bl/6 — на 66%. В ткани гиппокампа после в/б введения величина B_{max} у BALB/c уменьшалась на 19%, у C57Bl/6 — на 24%, а после и/н у BALB/c происходило увеличение рецепторного связывания на 95% (*t*-тест, $p < 0.05$), тогда как у C57Bl/6 изменений не наблюдалось.

В ранее проведенных исследованиях нами было показано, что у мышей линии BALB/c, исходно имеющих меньшую исследовательскую активность и больший уровень тревожности по сравнению с

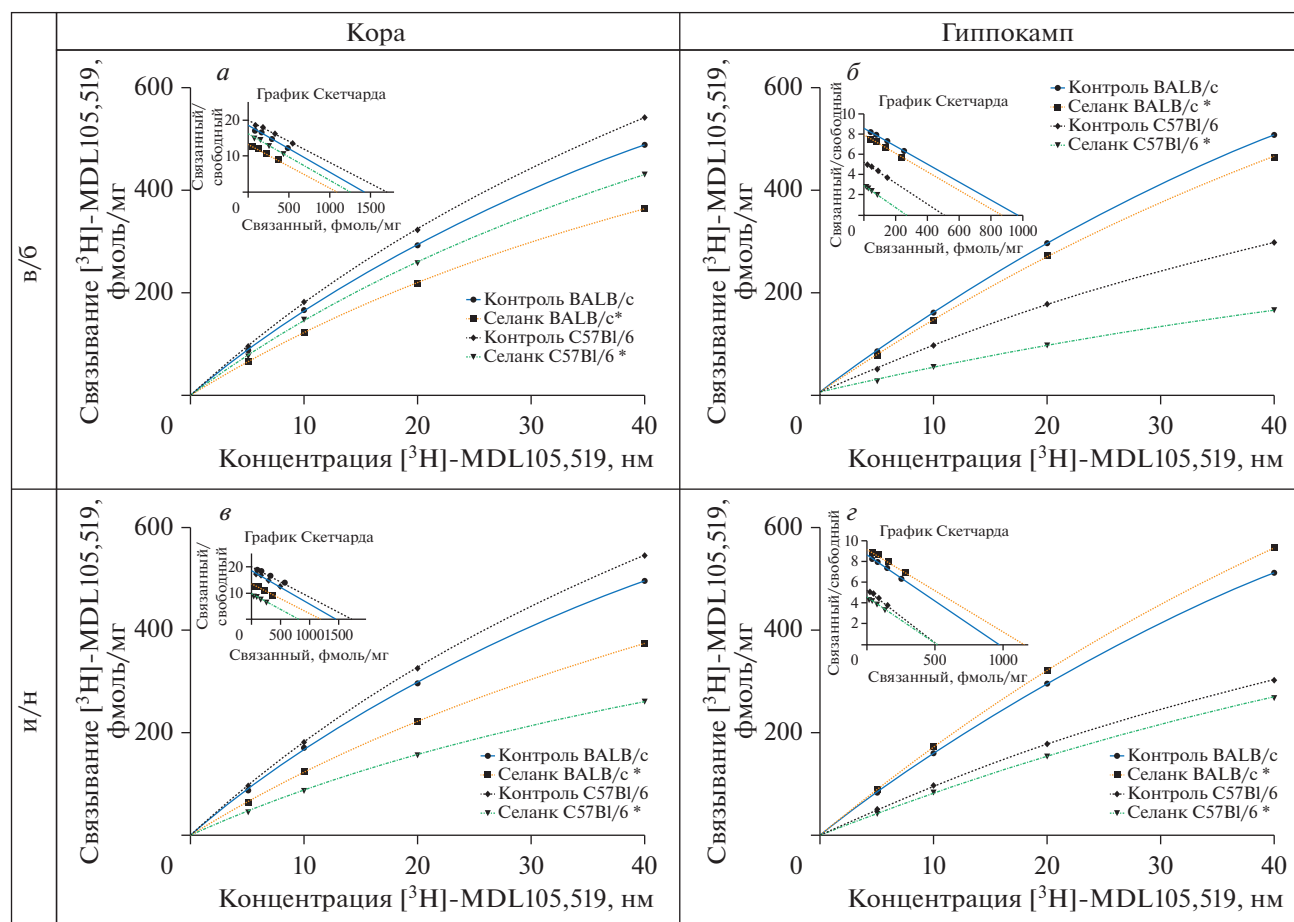


Рис. 1. Влияние внутрибрюшинного (а, б) и интраназального (в, г) введения селанка на специфическое связывание $[^3\text{H}]\text{-MDL105,519}$ с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6, кривая насыщения и график Скетчарда. Примечание: * статистически значимые отличия от контроля по t -тесту Стьюдента, $p < 0.05$.

мышами C57Bl/6, после в/б введения в спектре психофармакологического действия селанка, ноопепта и семакса преобладают анксиолитические свойства, тогда как при назальном – ноотропные [5, 6].

Избирательность действия селанка, ноопепта и семакса в отношении инбредной линии мышей BALB/c отмечалась в наших предыдущих экспериментах, в которых все три пептида увеличивали плотность ГАМК_A-рецепторов в коре мозга этих мышей при обоих путях введения [12, 13].

Вместе с тем, различные пути введения этих пептидов не сопровождалась одинаковой направленностью действия на уровне глутаматных NMDA-рецепторов, в частности, в отношении глутаматных NMDA-рецепторов (сайт связывания МК-801) мышей линий BALB/c и C57Bl/6 [6].

В настоящем исследовании нам удалось охарактеризовать стороны действия, общие для изученных пептидов. Во-первых, это уменьшение плотности ГЛИ-сайтов NMDA-рецепторов в коре мозга вне зависимости от способа введения и

линии мышей (исключение составил лишь ноопепт при в/б введении), причем, при сравнении влияния в количественном отношении результат интраназального введения выглядит убедительнее (табл. 1). Вероятно, всем изученным пептидам более присущ экстранейрональный транспорт вдоль обонятельного нерва, посредством которого короткие пептидные молекулы могут попадать напрямую в нервную ткань по межклеточному пространству через щелевые контакты между поддерживающими клетками и обонятельными нейронами. При этом нет участия пресистемного метаболизма в желудочно-кишечном тракте и печени, в связи с чем терапевтический эффект достигается быстрее [21, 22].

Во-вторых, к общим можно отнести рецепторные эффекты селанка и семакса в гиппокампе мышей обеих линий в результате в/б введения (вновь за исключением ноопепта). В отношении последнего можно предположить, что причиной отсутствия эффекта в коре и гиппокампе мозга мышей обеих линий после в/б введения может

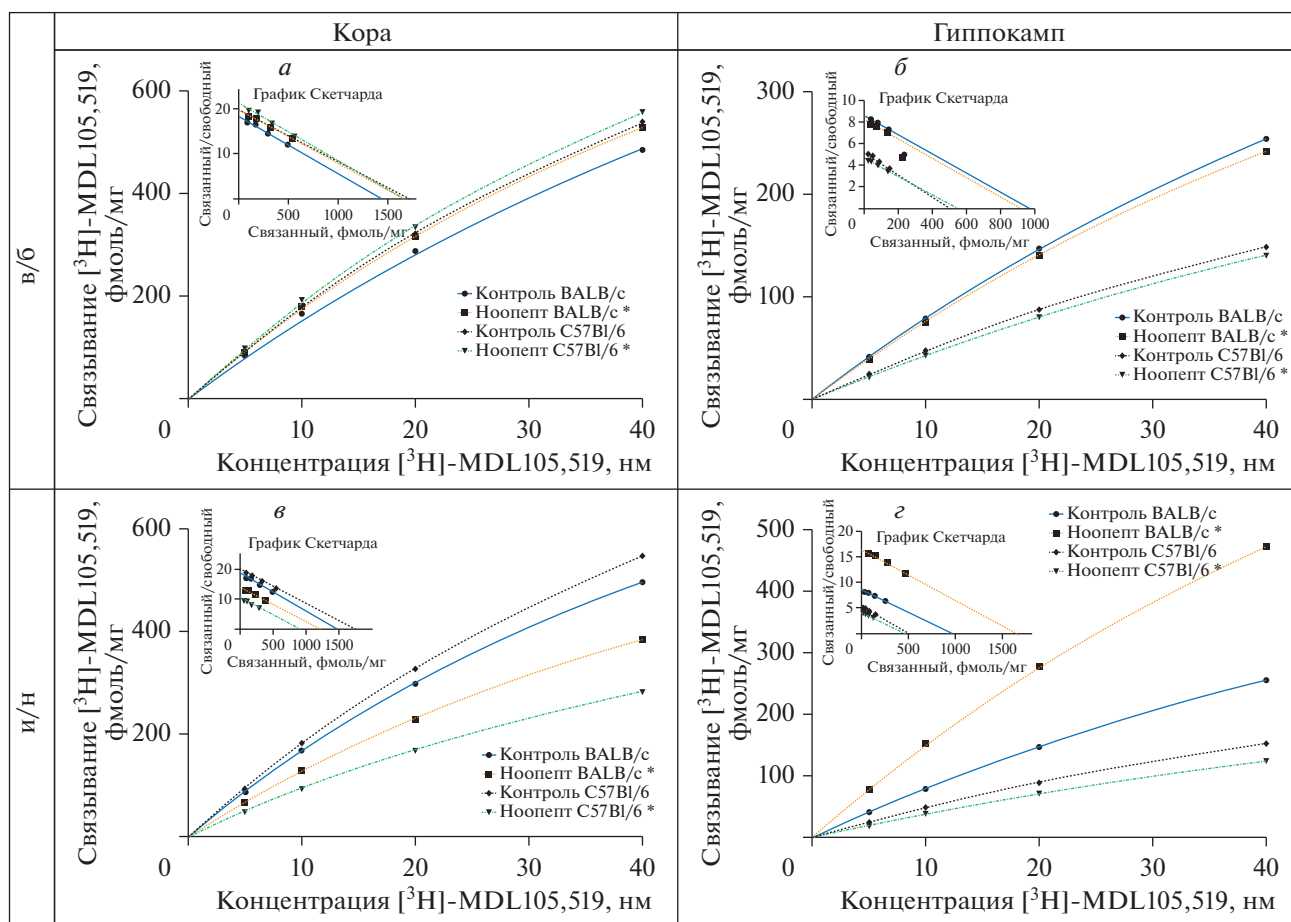


Рис. 2. Влияние внутрибрюшинного (а, б) и интраназального (в, з) введения ноопепта на специфическое связывание $[^3\text{H}]\text{-MDL105,519}$ с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6, кривая насыщения и график Скетчарда. Примечание: — * статистически значимые отличия от контроля по t -тесту Стьюдента, $p < 0.05$.

служить его химическая структура: будучи дипептидом, ноопепт является самым коротким из представленных пептидов, что предполагает меньшее количество образующихся метаболитов. Поступая в системный кровоток, ноопепт проникает через гематоэнцефалический барьер, определяется в мозге в больших концентрациях, чем в крови, пептид частично сохраняется в неизменном виде, частично метаболизируется с образованием фенилуксусной кислоты, фенилацетилпролина и циклопролилглицина. Неизмененный ноопепт обнаруживается в сыворотке крови в малых количествах, поскольку быстро метаболизируется в течение 25 мин [23].

Кроме того, к числу особенностей действия ноопепта можно отнести увеличение плотности мест связывания $[\text{G-}^3\text{H}]\text{MK-801}$ на NMDA-рецепторах мозга мышей генотипа BALB/c после в/б введения, тогда как ни у селанка, ни у семакса подобного эффекта не наблюдалось [6].

Наиболее высокая степень специфичности эффектов пептидов наблюдается при и/н введе-

нии пептидов: (а) все три пептида приводят к возрастанию плотности глициновых мест связывания NMDA-рецепторов, (б) этот эффект проявляется только у мышей BALB/c и (в) специфичен для гиппокампа мозга. Причиной такого эффекта может быть первичное поступление в разные области мозга при разных путях введения. В частности, именно при и/н пути введения вещества, попадающие в мозг по обонятельному нерву, достигают преимущественно ростральные отделы мозга, включая обонятельные луковицы, гиппокамп, миндалину [24–26]. В данном случае наибольшее количество пептидов, минуя системный кровоток, доходят в неизменном виде до гиппокампа мышей BALB/c.

Обращает на себя внимание, что при обоих способах введения пептидов у этих линий мышей в разных структурах мозга семакс оказывает наибольшее по сравнению с ноопептом и селанком влияние на рецепторные характеристики. Возможным объяснением служат сведения о способности семакса конкурировать за ортостерические места связывания лиганда метаболитных глута-

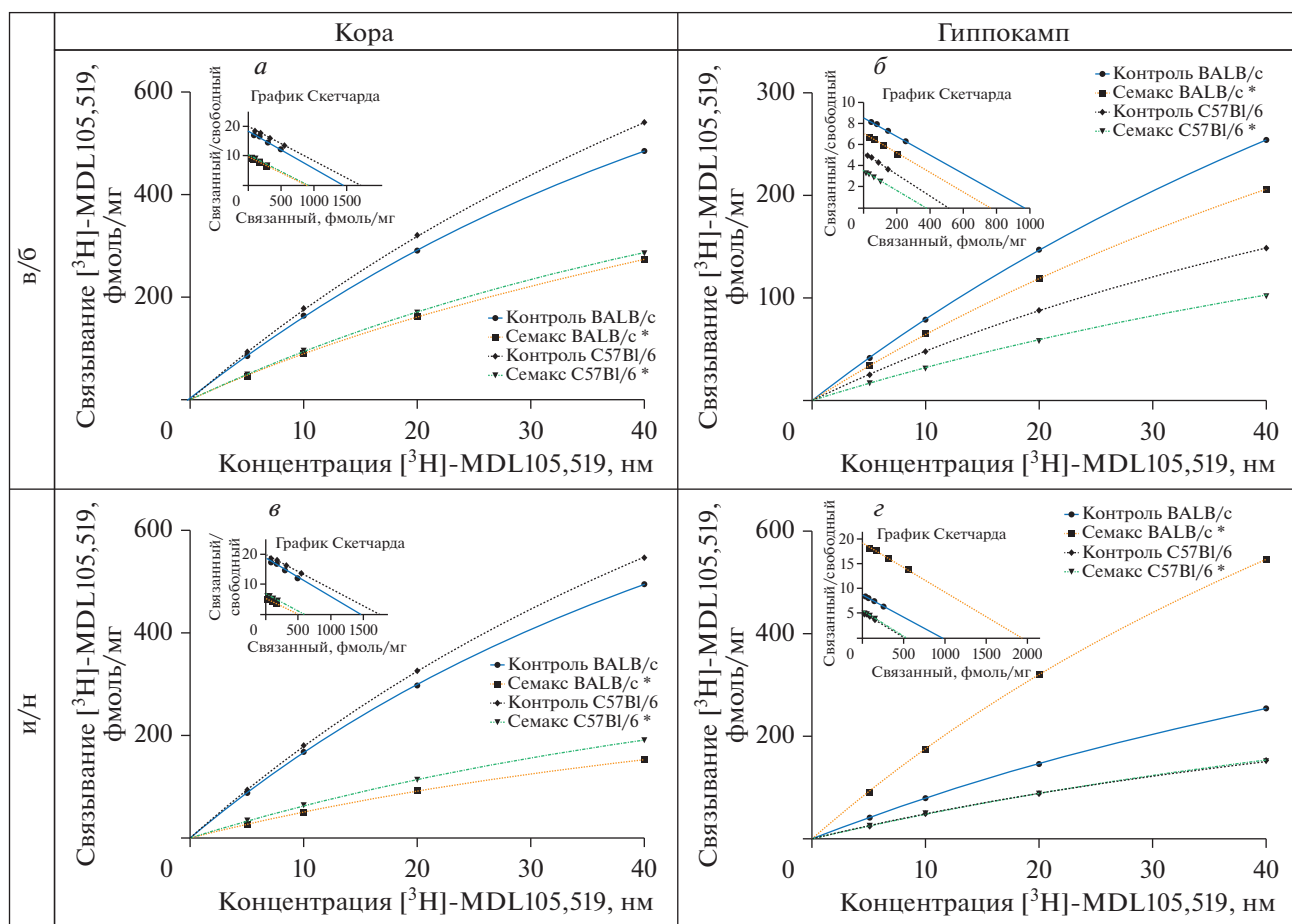


Рис. 3. Влияние внутрибрюшинного (а, б) и интраназального (в, з) введения семакса на специфическое связывание $[^3\text{H}]$ -MDL105,519 с NMDA-рецепторами коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6, кривая насыщения и график Скетчарда. Примечание: * статистически значимые отличия от контроля по t -тесту Стьюдента, $p < 0.05$.

матных рецепторов — $[G\text{-}^3\text{H}]\text{LY354740}$ [27], что в свою очередь, косвенно влияет на активность NMDA-рецепторов.

В качестве причины уменьшения количества глициновых сайтов под влиянием пептидов можно привести существование специфического взаимодействия разных субъединиц NMDA-рецепторов. Так, сайт связывания глутамата на субъединице GluN2 и сайт глицина на субъединице GluN1 демонстрируют отрицательную обратную связь: связывание одного агониста уменьшает видимое сродство другого почти в 5 раз [28]. Об этом взаимодействии свидетельствует форма десенситилизации, когда NMDA-рецепторы активируются глутаматом на фоне ненасыщенных мест связывания глицина [28–30]. В нашем случае, возможно, имеет место феномен увеличения мест связывания глутамата, впоследствии приводящее к снижению сродства глицина и его мест связывания, подтверждение чего требует проведения дополнительных экспериментов.

Конечно, необходимо отметить, что использованный нами метод радиолигандного анализа имеет объективные ограничения, не позволяющие определить конкретные субъединицы, на которых происходит уменьшение числа ГЛИ-сайтов. По этой причине более детальная интерпретация полученных данных затруднена. В частности, специфическое взаимодействие глицина с разными субъединицами вызывает разные эффекты: связывание глицина с субъединицами GluN3 запускает открытие канала, а с GluN1 оказывает противоположный эффект, приводя к автоингибированию путем быстрого перехода в непроницаемое, десенситилизованное состояние [31–34].

Анализ полученных в настоящей работе данных свидетельствует о возможности участия ГЛИ-сайта NMDA-рецепторов коры мозга (а также гиппокампа при в/б введении), в формировании эффектов селанка, ноопепта и семакса, общих для мышей обеих линий BALB/c и C57Bl/6. Следовательно, роль этого сайта в коре, а также гиппокампе при в/б введении не является опре-

Таблица 1. Влияние селанка, ноопепта и семакса на характеристики связывания с ГЛИ-сайтом NMDA-рецепторов коры и гиппокампа мозга мышей BALB/c и C57Bl/6 *ex vivo* после внутрибрюшинного и интраназального субхронических введений

Структура	Введение	Группы	$B_{\max}$, фмоль/мг белка	
			BALB/c	C57Bl/6
Кора	в/б	Контроль	1434 ± 50	1686 ± 37#
		Селанк	1088 ± 29*	1260 ± 47*
		Ноопепт	1609 ± 48	1628 ± 70
		Семакс	854 ± 35*	887 ± 39*
	и/н	Контроль	1458 ± 51	1704 ± 38#
		Селанк	1189 ± 46*	794 ± 27*
		Ноопепт	1181 ± 45*	870 ± 29*
		Семакс	496 ± 21*	576 ± 20*
Гиппокамп	в/б	Контроль	944 ± 13	496 ± 9#
		Селанк	838 ± 21*	274 ± 14*
		Ноопепт	871 ± 23	528 ± 12
		Семакс	767 ± 12*	375 ± 6*
	и/н	Контроль	954 ± 13	507 ± 9#
		Селанк	1096 ± 31*	512 ± 12
		Ноопепт	1561 ± 40*	473 ± 7
		Семакс	1862 ± 45*	527 ± 12

Примечание: */# статистически значимые отличия от контроля/между контролями (*t*-тест Стьюдента, $p < 0.05$); данные представлены в виде средних арифметических величин и их стандартных ошибок, $m \pm SEM$.

деляющей в проявлении ноотропного и/или анксиолитического эффектов ввиду отсутствия избирательности этих действий в отношении мышей линии BALB/c [6].

Напротив, специфическое сочетание (а) одинаковой направленности полученных эффектов по увеличению плотности (б) ГЛИ-сайтов NMDA-рецепторов (в) гиппокампа у (г) мышей BALB/c после (д) назального введения всех трех пептидов дает основание предположить, что этот сайт может рассматриваться в качестве функциональной мишени в комплексном механизме формирования ноотропного эффекта. Действительно, в предыдущих исследованиях нами было обнаружено, что ноотропный компонент фармакологического эффекта изучаемых пептидов при и/н введении мышам линии BALB/c в количественном отношении преобладает над анксиолитическим [6].

ВЫВОДЫ

1. Обладающие ноотропным эффектом пептидные препараты селанк, ноопепт и семакс не конкурируют с [³H]-MDL105,519 за специфические места связывания глицина в NMDA-рецепторах в условиях *in vitro*.

2. Гексапептид селанк снижает плотность глициновых сайтов: в коре при в/б и и/н введениях — у мышей BALB/c на 24 и 18%, у C57Bl/6 — на 25 и 53% соответственно, в гиппокампе при в/б введении — у мышей BALB/c на 11%, у C57Bl/6 — на 45%; повышает количество мест связывания глицина в гиппокампе при и/н введении у мышей линии BALB/c на 15%.

3. Дипептид ноопепт уменьшает количество глициновых сайтов NMDA-рецепторов в коре при и/н введении у мышей линии BALB/c на 19%, у C57Bl/6 — на 49%; повышает количество мест связывания глицина в гиппокампе при и/н введении у мышей линии BALB/c на 63%.

4. Гептапептид семакс снижает плотность глициновых рецепторов: в коре при в/б и и/н введениях — у мышей BALB/c на 40 и 66%, у C57Bl/6 — на 47 и 66% соответственно, в гиппокампе при в/б введении — у мышей BALB/c на 19%, у C57Bl/6 — на 24%; повышает количество мест связывания глицина в гиппокампе при и/н введении у мышей линии BALB/c на 95%.

5. Однонаправленность эффектов семакса, ноопепта и селанка в отношении плотности ГЛИ-сайтов NMDA-рецепторов в гиппокампе после

интраназального введения, избирательных к линии мышей BALB/c, предполагает в совокупности их специфичность в комплексном механизме формирования ноотропного эффекта.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0521-2019-0009 “Анализ рецепторных механизмов и поиск средств фармакологической протекции ЦНС при нарушениях мозгового кровообращения и когнитивных расстройствах”, а также FGFG-2022-0006 “Фармакологическая коррекция цереброваскулярных и сопряженных когнитивных расстройств с их нейрорецепторным анализом”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Организация экспериментов соответствовала этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург; Правила надлежащей лабораторной практики”, утвержденные приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Телешова Е.С., Бочкарев В.К., Сюняков Т.С., Бугаева Т.П., Незнамов Г.Г. // Психиатрия. 2010. № 4. С. 26–35.
2. Ashmarin I.P., Nezavibatko V.N., Myasoedov N.F., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Ponomareva-Stepnaya M.A., Andreeva L.A., Kaplan A.Y., Koshelev V.B., Rysina T.V. // Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 1997. V. 47. № 7. P. 429–430.
3. Gudasheva T.A., Voronina T.A., Ostrovskaya R.U., Rozantsev G.G., Vasilevich N.I., Trofimov S.S., Kravchenko E.V., Skoldinov A.P., Seredenin S.B. // Eur. J. Med. Chem. 1996. V. 31. P. 151–157.
4. Ковалев Г.И., Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М., Кондрахин Е.А. // Психиатрия. 2010. Т. 45. № 3. 23–27.
5. Васильева Е.В., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012. Т. 75. № 7. С. 32–37.
6. Vasileva E.V., Kondrakhin E.A., Abdullina A.A., Salimov R.M., Kovalev G.I. // Neurochem. J. 2020. V. 14. № 3. P. 268–278.
7. Ковалев Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76. № 9. С. 3–10.
8. Ковалев Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 12. С. 49–55.
9. Dauvermann M.R., Lee G., Dawson N. // Br. J. Pharmacol. 2017. V. 174. № 19. P. 3136–3160.
10. Haefely W., Kulcsár A., Möhler H. // Psychopharmacol. Bull. 1975. V. 11. P. 58–59.
11. Smith K.S., Engin E., Meloni E.G., Rudolph U. // Neuropharmacology. 2012. T. 63. P. 250–258.
12. Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. Т. 79. № 9. С. 3–11.
13. Vasil'eva E.V., Abdullina A.A., Kovalev G.I. // Neurochem. J. 2021. V. 15. № 3. P. 260–265.
14. Traynelis S.F., Wollmuth L.P., McBain C.J., Menniti F.S., Vance K.M., Ogden K.K., Hansen K.B., Yuan H., Myers S.J., Dingledine R. // Pharmacol. Rev. 2010. V. 62. P. 405–496.
15. Stroebel D., Mony L., Paoletti P. // Neuropharmacology. 2021. V. 193. P. 1–12.
16. Finlay J.M., Dunham G.A., Isherwood A.M. // Brain Res. 2015. V. 1600. P. 70–83.
17. Grova N., Schroeder H., Farinelle S., Prodhomme E., Valley A., Claude P., Muller C.P. // Chemosphere. 2008. V. 73. P. S295–S302.
18. Glowinski L.L., Iversen J. // J. Neurochem. 1966. V. 13. № 8. P. 655–669.
19. Васильева Е.В., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2016. № 2. С. 31–36.
20. Parsons C.G., Danysz W., Quack G., Hartmann S., Lorenz B., Wollenburg C., Baran L., Przegalinski E., Kostowski W., Krzascik P., Chizh B., Headley P.M. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1997. V. 283. № 3. P. 1264–1275.
21. Hanson L.R., Frey H.F. // BMC Neuroscience. 2008. № 9. P. S3–S5.
22. Illum L. // Eur. J. Pharm. Sci. 2000. № 11. P. 1–18.
23. Бойко С.С., Жердев В.П., Дворянинов А.А., Гудаева Т.А., Островская Р.У., Воронина Т.А., Розанцев Г.Г., Середин С.Б. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 1997. № 60. С. 101–104.
24. Potaman V.N., Antonova L.V., Dubynin V.A., Zaitzev D.A., Kamensky A.A., Myasoedov N.F., Nezavibatko V.N. // Neurosci. Lett. 1991. V. 127. № 1. P. 133–136.
25. Манченко Д.М., Глазова Н.Ю., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2010. Т. 96. № 10. С. 1014–1023.
26. Chen X.Q., Fawcett J.R., Rahman Y.E., Ala T.A. and Frey W.H. 2nd // J. Alzheimers Dis. 1998. V. 1. № 1. P. 35–44.
27. Фирстова Ю.Ю., Васильева Е.В., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2010. Т. 74. № 1. С. 6–10.
28. Mayer M.L., Vyklicky L., Clements J. // Nature. 1989. V. 338. P. 425–427.
29. Lerma J., Zukin R.S., Bennett M.V. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1990. V. 87. P. 2354–2358.
30. Vyklický L., Benveniste M., Mayer M.L. // J. Physiol. 1990. V. 428. P. 313–331.
31. Awobuluyi M., Yang J., Ye Y., Chatterton J.E., Godzik A., Lipton S.A., Zhang D. // Mol. Pharmacol. 2007. V. 71. P. 112–122.
32. Grand T., Abi Gerges S., David M., Diana M.A., Paoletti P. // Nat. Commun. 2018. V. 9. № 4769.

33. Madry C., Mesic I., Bartholomaeus I., Nicke A., Betz H., Laube B. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007. V. 354. P. 102–108.
34. Skrenkova K., Hemelikova K., Kolcheva M., Kortus S., Kaniakova M., Krausova B., Horak M. // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 12303.

Common and Specific Effects of Selank, Noopept, and Semax to Glycine Site of the NMDA Receptor in BALB/c and C57Bl/6 Mice Brain

E. V. Vasileva^a, A. A. Abdullina^a, and G. I. Kovalev^a

^a Zakusov Research Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

The effects of the nootropic peptides selank (300 mg/kg), noopept (1 mg/kg), and semax (0.6 mg/kg) after subchronic intraperitoneal (i.p.) and intranasal (i.n.) administration on the binding of [³H]-MDL105,51 to NMDA glycine site in BALB/c and C57Bl/6 mice brain were examined. It was found that in C57Bl/6 mice in comparison with BALB/c the number of glycine binding sites ($B_{\max}$) at baseline was 15% higher in the cortex and 47% lower in the hippocampus. In the cortex i.n. administration of selank, noopept, and semax resulted in 18, 19, and 66% decrease in the number of glycine binding sites in BALB/c mice, and in 53, 49, and 66% in C57Bl/6 mice, respectively. In the hippocampus i.n. administration of selank, noopept, and semax resulted in 15, 63, and 95% increase in the number of glycine binding sites in BALB/c mice, respectively, while in C57Bl/6 mice all three peptides were not effective. In the cortex i.p. administration of selank and semax decreased glycine binding sites by 24 and 40% in the cortex and by 11 and 19% in the hippocampus in BALB/c mice, while in C57Bl/6 mice the reduction was 15% and 47% in the cortex and 45 and 24% in the hippocampus, respectively. Noopept did not affect the binding. These patterns observed in the cortex after i.n. and i.p. administration appear to be common to the both mice strains suggesting an engagement of the cortical NMDA glycine site in action(s) that underlie some common pharmacological effects of the selected peptides. Whereas the specific effect of selank, noopept, and semax after i.n. administration in the BALB/c hippocampi may be associated with the mechanisms of nootropic and anxiolytic activities of these peptides manifested in that mice strain.

Keywords: selank, noopept, semax, mice, BALB/c, C57Bl/6, prefrontal cortex, hippocampus, NMDA-receptor, glycine site, [³H]-MDL105,519

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 612.822.3

ВЛИЯНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО МИМЕТИКА ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ ГК-2 НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ И СВОЙСТВА СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В СРЕЗАХ ГИППОКАМПА

© 2023 г. А. А. Волкова^{1, 3, *}, П. Ю. Поварнина¹, П. Д. Рогозин², Р. В. Кондратенко², И. Н. Шаронова², А. А. Каменский³, В. Г. Скребицкий²

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

² ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

Поступила в редакцию 24.11.2022 г.

После доработки 12.01.2023 г.

Принята к публикации 13.01.2023 г.

Фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) способствует пролиферации, дифференцировке и поддержанию жизнеспособности и функционирования периферических и центральных нейронов. В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова был сконструирован и синтезирован оригинальный димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF — гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-*L*-глутамил-*L*-лизина) (ГК-2) активирующий PI3K/AKT и PLC- γ 1 сигнальные каскады без влияния на MAPK/ERK, с предполагаемыми прокогнитивными свойствами. В настоящей работе изучены мнемоторные эффекты ГК-2 при однократном в/б введении в дозах 0.1; 0.5 и 5.0 мг/кг в тесте распознавания нового объекта у крыс. Обнаружено, что ГК-2 в дозе 0.5 мг/кг статистически значительно улучшал долговременную память животных. В экспериментах на переживающих срезах гиппокампа крыс проведена оценка действия ГК-2 на синаптическую передачу и ее пластические свойства в синаптической системе коллатерали Шаффера — пирамидные нейроны поля CA1.

Ключевые слова: переживающие срезы гиппокампа, PPR, низкомолекулярный миметик NGF, тест распознавания нового объекта

DOI: 10.31857/S1027813323020188, **EDN:** UDDMTT

ВВЕДЕНИЕ

Белки семейства нейротрофинов — регуляторы выживания и функционирования как центральных, так и периферических нейронов [1]. Фактор роста нервов (NGF) является наиболее хорошо изученным представителем этого семейства. NGF способствует пролиферации, дифференцировке и поддержанию жизнеспособности и функционирования периферических и центральных нейронов [2]. NGF необходим для нормальной синаптической пластичности в норме и патологии [3, 4].

С момента открытия NGF рассматривается возможность его использования для лечения нейродегенеративных заболеваний, и в настоящее время имеется большое число экспериментальных и клинических данных, свидетельствующих о нейропротекторных и ноотропных свойствах этого пептида [5–7]. Однако существуют ограничения для использования полноразмерного нейротрофина в клинических условиях, связанные

со слабой способностью пептида проникать через гематоэнцефалический барьер, а также наличием ряда побочных эффектов, включая гипeralгезию и существенную потерю веса [2]. Это обуславливает необходимость создания низкомолекулярных соединений, обладающих необходимыми клиническими свойствами, но лишенных недостатков их полноразмерного аналога [8–10].

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова на основе структуры бета-изгиба 4-й петли NGF был создан новый миметик NGF, представляющий собой димерный дипептид — гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-*L*-глутамил-*L*-лизина) (ГК-2) [11] (Патент РФ № 2410392, 2011; Патент Китая № 102365294 В, 2016) (рис. 1).

Ранее с помощью Вестерн-блоттинга было установлено, что ГК-2 взаимодействует со специфическими для полноразмерного NGF высокоафинными TrkA-рецепторами, однако миметик избирательно активирует PI3K/AKT и PLC- γ 1 каскады, не оказывая влияния на MAPK/ERK сигнальный путь [12, 13]. *In vitro* ГК-2 проявлял нейропротективную активность в микро-нано-

* Адресат для корреспонденции: 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8; e-mail: volkova@mail.bio.msu.ru.

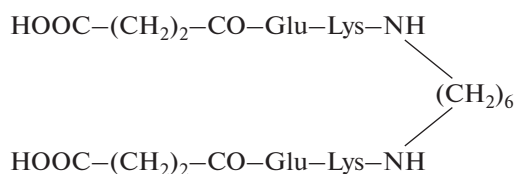


Рис. 1. Димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF ГК-2.

молярных концентрациях в условиях окислительного стресса, глутаматной и МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин)-токсичности на гиппокампальных клетках линии НТ22 [11, 14].

Ранее у димерного дипептидного миметика NGF ГК-2 при его хроническом внутрибрюшинном (в/б) введении были выявлены мнемотропные свойства на стрептозотоциновой модели болезни Альцгеймера при тестировании в водном лабиринте Морриса [15]. Также при остром введении ГК-2 в дозах 0.5 и 1.0 мг/кг улучшал долговременную память крыс в тесте распознавания нового объекта и не влиял на кратковременную [16].

В настоящей работе в опытах на крысах с использованием теста распознавания нового объекта исследовали зависимость прокогнитивных эффектов ГК-2 от дозы препарата.

Гиппокамп является одной из ключевых структур в формировании памятного следа в мозге. На молекулярно-клеточном уровне это выражается в том, что синаптическая передача в гиппокампе и её пластические перестройки являются ключевыми механизмами, лежащими в основе многих видов памяти, проявляющейся на поведенческом уровне [17, 18]. В связи с чем нами также была поставлена задача изучить влияние миметика NGF на синаптическую передачу в гиппокампе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Вещества. Димерный дипептидный миметик NGF ГК-2 был получен в Отделе химии лекарственных средств НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, как описано ранее [11]. ГК-2: м. м. = 830.92, чистота = 97.4%, $[\alpha]^{22}_D = -47.0^\circ$ (с 0.1; H₂O), т. пл. = 120–128°C.

Миметик исследовался в дозах 0.1; 0.5 и 5.0 мг/кг для ГК-2. Дозы выбраны на основе ранее проведенных исследований фармакологической активности [12, 19, 20]. ГК-2 растворяли в дистиллированной воде и вводили внутривенно (в/в).

Животные. Эксперименты проводили на крысах линии Wistar, полученных из питомника лабораторных животных “Андреевка” ФГБУН “Научный центр биомедицинских технологий” ФМБА

России. Животных содержали в виварии в условиях естественного освещения на стандартном питании и со свободным доступом к воде и пище. Поведенческие эксперименты проводили в интервале 10.00–14.00.

Дизайн поведенческого исследования. Для теста было использовано 40 крыс-самцов. Животные были разделены случайным образом на контрольную группу, получавшую однократно внутрибрюшинно (в/б) дистиллированную воду, и группы, получавшие однократно в/б ГК-2 в дозах 0.1, 0.5 и 5.0 мг/кг (всего 4 группы), таким образом, чтобы в каждой группе было по 10 крыс. Через 24 ч после инъекции начинали тест распознавания нового объекта.

Тест распознавания нового объекта. Тест основан на естественном стремлении крыс к исследованию новых объектов [21] и используется для оценки кратковременной и долговременной памяти [22]. Тест проводили, как подробно описано ранее [16]. Для оценки кратковременной памяти регистрировали время исследования знакомого и нового объекта через 1 ч после фазы ознакомления, для оценки долговременной памяти – через 24 ч. Затем по формуле:
$$КД = \frac{T_{нов} - T_{зн}}{T_{нов} + T_{зн}},$$
 где $T_{нов}$ – время исследования нового объекта, $T_{зн}$ – время исследования знакомого объекта; рассчитывали коэффициент дискриминации [23]. При $КД > 0$ животное помнит объект, предъявлявшийся в фазу ознакомления, так как исследует его меньше.

Электрофизиология. Влияние ГК-2 на вызванную синаптическую активность изучали на переживающих поперечных срезах гиппокампа 5–8 недельных крыс линии Вистар. Всего было использовано 7 крыс обоих полов ($N = 7$). Животных умерщвляли методом дислокации шейных позвонков. Срезы гиппокампа 300–500 мкм получали с помощью виброножа оригинальной конструкции (Патент РФ № 214839, 2022). Перед погружением в суперфузионную камеру для регистрации вызванной активности, срезы 1–1.5 ч находились при комнатной температуре (25°C) в модифицированном растворе Рингера для млекопитающих с концентрацией (в mM): 124 NaCl, 3 KCl, 2.5 CaCl₂, 1.25 Na₂HPO₄, 2.5 MgSO₄, 26 NaHCO₃ и 10 D-глюкозы, pH 7.4, при насыщении карбогеном (95% O₂, 5% CO₂). При регистрации скорость протока составляла 7–8 мл/мин, при температуре 32°C. Вызванные ответы были получены раздражением коллатерали Шаффера на границе полей CA2 и CA1 двумя последовательными стимулами (0.1 мс длительность, межстимульный интервал 50 мс) с частотой 0.03 Гц. Регистрирующие электроды располагали в *str. radiatum* поля CA1 в 1–2 мм от места раздражения, у полученных фокальных возбуждающих постсинапти-

Таблица 1. Эффект однократного внутрибрюшинного введения ГК-2 в тесте распознавания нового объекта

Группа (число животных в группе)	КД	
	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	$0.44 \pm 0.06^{****}$
ГК-2, 5 мг/кг ($n = 10$)	0.55 ± 0.06	0.21 ± 0.06

**** $p < 0.0001$ по сравнению с группой “Контроль” (one-way ANOVA, Dunnett test).

ческих потенциалов (фВПСП) визуально оценивали амплитуду, и соотношение пресинаптического ответа к постсинаптическому. 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 перед началом экспериментального воздействия.

Статистический анализ. Статистическая обработка была проведена в компьютерных программах GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, USA) и Microsoft Excel (Microsoft, USA). Так как данные экспериментов были нормально распределены (тест Шапиро–Уилка) и по данным теста Левена дисперсии равны ($p = 0.1696$), для статистической обработки был использован однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA).

Данные на графиках и в таблицах представлены как среднее, разбросы обозначают стандартную ошибку среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поведенческие эксперименты. Ранее было показано, что ГК-2 в тесте распознавания нового объекта при остром введении в дозах 0.5 и 1.0 мг/кг не влияет на кратковременную память крыс и статистически значимо улучшает долговременную [16].

В соответствии с ранее полученными данными введение ГК-2 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.

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. 1). В дозах 0.1 и 5.0 мг/кг дипептид был неактивен.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что прокогнитивные эффекты ГК-2 зависят от дозы препарата, причем эта зависимость имеет колоколообразный характер (рис. 2): оптимальной для развития когнитотропного эффекта ока-

залась доза 0.5 мг/кг, повышение дозы до 5.0 мг/кг приводило к потере эффекта.

Колоколообразная зависимость “доза–эффект” характерна для многих биологических молекул, включая регуляторные пептиды [24]. Двухфазная или трехфазная реакция на увеличивающееся воздействие получила название гормезиса (hormesis) и является характеристикой многих биологических систем [25]. Концепция гормезиса получила широкое распространение в фундаментальных биологических и биомедицинских науках [26]. Колоколообразная зависимость эффектов от дозы ранее была показана для ГК-2 на моделях болезни Паркинсона [27] и диабета [28]. Интересно отметить, что подобная зависимость отмечается и для NGF, однако в случае с полно-размерным белком это связывают с активацией низкоаффинных рецепторов p75NTR, сопряженных с доменом смерти и стимулирующих апоптоз [29, 30].

Электрофизиология. Ранее нами были получены данные об отсутствии 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 механиз-

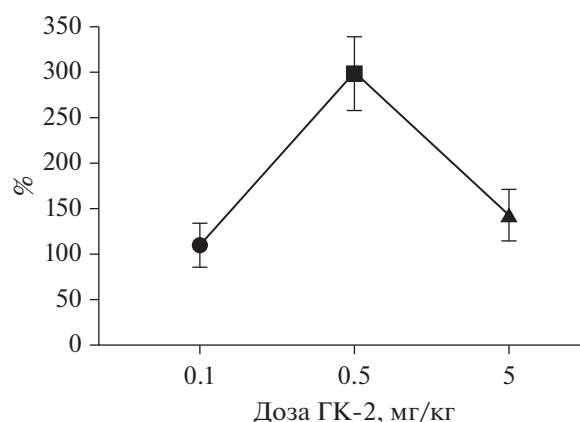


Рис. 2. Кривая “доза–эффект” миметика 4-й петли NGF ГК-2. Данные нормированы на контрольные значения.

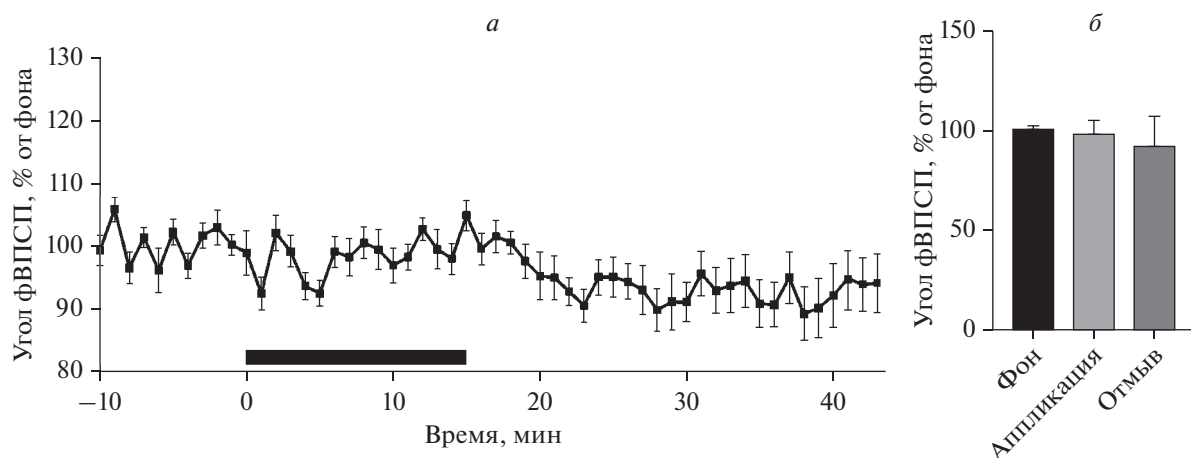


Рис. 3. Влияние аппликации 1 мг/л ГК-2 на фВПСП. *a* – динамика изменения угла наклона фВПСП в поле СА1 гиппокампа, аппликация показана черным прямоугольником. *б* – усредненные значения за 5 последних минут, $n = 10$.

ма улучшения кратковременной памяти в поведенческих тестах [31]. Однако, в этих экспериментах не была проведена оценка влияния острого эффекта миметика NGF ГК-2 на базовую синаптическую передачу в системе коллатерали Шаффера – пирамиды СА1. В данной работе были изучены эффекты острой аппликации ГК-2 на срезы гиппокампа. Аппликация ГК-2 в наиболее эффективной *in vitro* концентрации 1 мг/л [31] в течение 15 мин в перфузирующий раствор с последующим отмыванием стандартным перфузатом в течение 30 мин не оказала значимого влияния на скорость нарастания фВПСП. Величина наклона фВПСП за 10–15 мин аппликации составила $99.12 \pm 2.04\%$ от фонового уровня, а в 25–30 мин отмыва $93.08 \pm 4.56\%$ (рис. 3). Снижение ответа оказалось статистически незначимо ($p = 0.19$, repeated measures ANOVA, $N = 7$, $n = 10$).

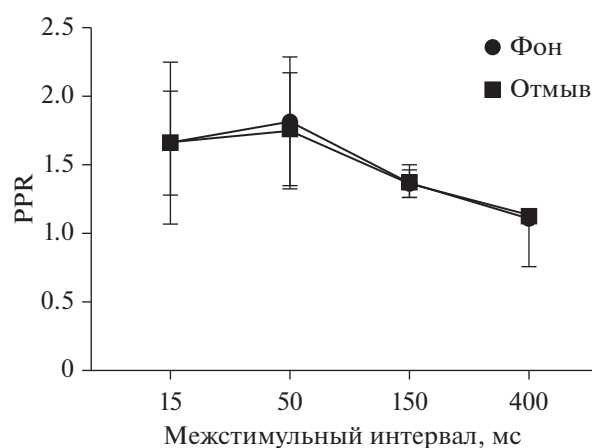


Рис. 4. Влияние аппликации 1 мг/л ГК-2 на величину PPR, $n = 9$.

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 межстимульным интервалом до 500 мс [32]. 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 мин отмывания вещества (repeated measures ANOVA, $p = 0.84$, $N = 7$, $n = 9$, рис. 4). Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии влияния ГК-2 на базовую синаптическую передачу в поле СА1 гиппокампа, а также кратковременную пластичность при остром воздействии этого препарата *in vitro*.

В литературе описано влияние самого NGF, миметиком которого является исследуемый нами пептид ГК-2, на синаптическую передачу и пластичность в гиппокампе [33]. И хотя в исследованиях *in vitro* эффекта острой аппликации обнаружено не было, хорошо известно о выраженном влиянии NGF на синаптические процессы при хроническом воздействии пептида, которое, возможно, опосредованно его влиянием на отдаленные от самого гиппокампа структуры [3, 4]. 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 МАРК/ЕРК сигнальный путь [12, 13]. Потому при оценке его влияния на поведение возможны отличия от NGF воздействия на синаптическую передачу. В исследованиях влияния других нейротрофинов (BDNF и NT-3) на вызванную синаптическую активность, вопреки превалирующему мнению о медленном (часы-дни) проявлении их эффектов, было обнаружено почти мгновенное (минуты) и значительное изменение базовых свойств синаптической передачи — увеличение ответа и снижение PPR, сохраняющиеся часы [33]. В этом контексте наши данные показывают, что долговременные эффекты ГК-2, выявленные в поведенческих тестах в настоящем и ранее проведенных исследованиях [16] могут быть опосредованы несинаптическими механизмами или непрямыми эффектами ГК-2.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все манипуляции с животными осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216-2014 “Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами”, а также согласно международным правилам, установленным Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. Все процедуры одобрены Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова” (Протокол № 3 от 18.02.2021 г.) и Этическим Комитетом ФГБНУ “Научный центр неврологии” (Протокол № 10–8/21 от 17.11.2021 г.)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Skaper S.D. // *Methods Mol. Biol.* 2012. V. 846. P. 1–12.
2. Aloe L., Rocco M.L., Bianchi P., Manni L. // *J. Transl. Med.* 2012. V. 10. № 1. P. 239.
3. Ivanov A.D., Tukhbatova G.R., Salozhin S.V., Markevich V.A. // *Neuroscience*. 2015. V. 289. P. 114–122.
4. Dobryakova Y.V., Spivak Y.S., Zaichenko M.I., Koryagina A.A., Markevich V.A., Stepanichev M.Y., Bolshakov A.P. // *Front. Neurosci.* 2021. V. 15.
5. Xu C.-J., Wang J.-L., Jin W.-L. // *Neurochem. Res.* 2016. V. 41. № 6. P. 1211–1218.
6. Manni L., Conti G., Chiaretti A., Soligo M. // *Front. Pharmacol.* 2021. V. 12.
7. Allen S.J., Watson J.J., Shoemark D.K., Barua N.U., Patel N.K. // *Pharmacol. Ther.* 2013. V. 138. № 2. P. 155–175.
8. Xie Y., Tisi M.A., Yeo T.T., Longo F.M. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 38. P. 29868–29874.
9. Scarpi D., Cirelli D., Matrone C., Castronovo G., Rosini P., Occhiato E.G., Romano F., Bartali L., Clemente A.M., Bottegoni G., Cavalli A., De Chiara G., Bonini P., Calissano P., Palamara A.T., Garaci E., Torcia M.G., Guarna A., Cozzolino F. // *Cell Death Dis.* 2012. V. 3. № 7. P. e339–e339.
10. Jain P., Li R., Lama T., Saragovi H.U., Cumberlidge G., Meerovitch K. // *Exp. Eye Res.* 2011. V. 93. № 4. P. 503–512.
11. Гудашева Т.А., Антипова Т.А., Середенин С.Б. // *Доклады Академии наук*. 2010. Т. 434. № 4. С. 549–552.
12. Gudasheva T.A., Povarnina P.Y., Antipova T.A., Firsova Y.N., Konstantinopolsky M.A., Seredenin S.B. // *J. Biomed. Sci.* 2015. V. 22. № 1. P. 106.
13. Gudasheva T.A., Logvinov I.O., Nikolaev S.V., Antipova T.A., Povarnina P.Y., Seredenin S.B. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2020. V. 494. № 1. P. 244–247.
14. Антипова Т.А., Николаев С.В., Гудашева Т.А. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2014. Т. 77. № 2. С. 8–11.
15. Povarnina P.Y., Vorontsova O.N., Gudasheva T.A., Ostrovskaya R.U., Seredenin S.B. // *Acta Naturae*. 2013. V. 5. № 3. P. 84–91.
16. Волкова А.А., Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. // *Химико-фармацевтический журнал*. 2022. Т. 56. № 4. С. 3–6.
17. Collingridge G.L., Isaac J.T.R., Wang Y.T. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2004. V. 5. № 12. P. 952–962.
18. Milner B., Squire L.R., Kandel E.R. // *Neuron*. 1998. V. 20. № 3. P. 445–468.
19. Середенин С.Б., Гудашева Т.А. // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015. № 6. С. 63–70.
20. Gudasheva T.A., Povarnina P., Logvinov I.O., Antipova T.A., Seredenin S.B. // *Drug Des. Devel. Ther.* 2016. V. 10. P. 3545–3553.
21. Ennaceur A., Delacour J. // *Behav. Brain Res.* 1988. V. 31. № 1. P. 47–59.
22. Antunes M., Biala G. // *Cogn. Process.* 2011. V. 13. № 2. P. 93–110.
23. Beldjoud H., Barsegyan A., Roozendaal B. // *Front. Behav. Neurosci.* 2015. V. 9. P. 108.
24. Puzzo D., Privitera L., Palmeri A. // *Neurobiol. Aging*. 2012. V. 33. № 7. P. 1484.e15–1484.e24.
25. Calabrese E. // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 10. P. 2871.
26. Calabrese E.J. // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2008. V. 66. № 5. P. 594–617.
27. Поварнина П.Ю., Гудашева Т.А., Воронцова О.Н., Бондаренко Н.А., Середенин С.Б. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2011. Т. 151. № 6. С. 634–637.

28. Иванов С.В., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55. № 4. С. 11–15.
29. Kemp S.W.P., Webb A.A., Dhaliwal S., Syed S., Walsh S.K., Midha R. // Exp. Neurol. 2011. V. 229. № 2. P. 460–470.
30. Wang X., Bauer J.H., Li Y., Shao Z., Zetoune F.S., Cattaneo E., Vincenz C. // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. № 36. P. 33812–33820.
31. 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. // Bull. Exp. Biol. Med. 2020. V. 168. № 4. P. 474–478.
32. Regehr W.G. // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2012. V. 4. № 7. P. a005702–a005702.
33. Kang H., Schuman E. // J. Physiol. 1995. V. 89. № 1. P. 11–22.

Effect of Low Molecular Weight Nerve Growth Factor Mimetic GK-2 on Cognitive Function and Synaptic Transmission in Hippocampal Slices

A. A. Volkova^{a, c}, P. Yu. Povarnina^a, P. D. Rogozin^b, R. V. Kondratenko^b,
I. N. Sharonova^b, A. A. Kamensky^c, and V. G. Skrebitsky^b

^a Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

^b Research Center of Neurology, Moscow, Russia

^c Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia

Nerve growth factor (NGF) contributes to the proliferation, differentiation and maintenance of the viability and functioning of peripheral and central neurons. At the Research Zakusov Institute of Pharmacology a dimeric dipeptide mimetic of the NGF loop 4 *bis*(monosuccinyl-*L*-glutamyl-*L*-lysine) hexamethylenediamide (GK-2) was created. GK-2 activates PI3K/AKT and PLC- γ 1 signaling cascades, without affecting MAPK/ERK, and appears to have procognitive properties. In the present study, we investigated the mnemotropic effects of GK-2 with a single intraperitoneal dose of 0.1, 0.5 and 5.0 mg/kg in the novel object recognition test in rats. GK-2 at a dose of 0.5 mg/kg statistically significantly improved the long-term memory of animals. In experiments on the rat hippocampal acute slices, we evaluated the effects of GK-2 on synaptic transmission and its plastic properties in the synaptic system Schaffer collaterals – CA1 pyramidal cell.

Keywords: hippocampal slices, PPR, low molecular weight NGF mimetic, novel object recognition test

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 615.214

ФЕНИБУТ, СЕМАКС И ГИЖ-290 МОДУЛИРУЮТ mGluII-РЕЦЕПТОРЫ КОРЫ МОЗГА НА МОДЕЛИ СИНДРОМА ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ У МЫШЕЙ

© 2023 г. Н. А. Сухорукова¹ *, Е. В. Васильева¹, Г. И. Ковалёв¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 08.11.2022 г.

После доработки 17.12.2022 г.

Принята к публикации 01.02.2023 г.

В ранее проведенных нами экспериментах было обнаружено, что ноотропные препараты пирацетам (200 мг/кг/сутки, внутривенно), пантогам (100), пантогам актив (200), фенибут (70), семакс (0.6), а также новое производное рацетама ГИЖ-290 (3) и препарат сравнения атомоксетин (3.0) в результате субхронического введения восстанавливают устойчивость внимания к новым объектам в тесте “закрытый обогащенный крестообразный лабиринт”, проявляя избирательность эффекта в отношении к субпопуляции мышей CD-1 с исходно низким индексом внимания. В настоящем исследовании изучено влияние этих препаратов на метаболитные глутаматные рецепторы (mGluRII) в префронтальной коре мозга этих мышей методом радиолигандного связывания специфического радиолиганда [G-³H]LY354740. Установлено, что плотность mGluII-рецепторов ($B_{\max}$) в мозге субпопуляций с фенотипом ED-Low была на 11–25% ниже, чем у субпопуляций с фенотипом ED-High. Ни один из препаратов не оказывал влияния на эти рецепторы в субпопуляции с фенотипом ED-High, тогда как в отношении фенотипа ED-Low эффективность проявили фенибут, семакс и ГИЖ-290, увеличившие величины $B_{\max}$ на 60, 19 и 22% соответственно. Таким образом, впервые показано, что mGluRII рецепторы вовлечены в патогенез ухудшения внимания, а ноотропные препараты фенибут, семакс и ГИЖ-290 (2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты) избирательно нормализуют исходно низкую плотность этих рецепторов, что подтверждает перспективность их применения в качестве средств для терапии синдрома дефицита внимания.

Ключевые слова: синдром дефицита внимания, моделирование, “закрытый обогащенный крестообразный лабиринт”, ноотропные препараты, атомоксетин, радиолигандный анализ, метаболитные глутаматные рецепторы

DOI: 10.31857/S1027813323020139, EDN: UDALLN

ВВЕДЕНИЕ

Синдром дефицита внимания (СДВ), согласно накопленным результатам экспериментальных и клинических исследований, является мультифакторной патологией, связанной с физиологическими и нейрохимическими нарушениями в функционировании таких отделов ЦНС, как фронтальная кора больших полушарий головного мозга (ГМ) и ретикулярная формация [1–3]. Проявляющиеся внешние отклонения поведения (невнимательность, импульсивность, гиперактивность), как правило, имеют в своей основе также и дисбаланс в нейромедиаторных системах ГМ, в первую очередь катехоламиновой. На сегодняшний день общепризнанной является превалирующая роль дисфункции компонентов дофаминавой и нора-

рениновой систем в формировании СДВ (“дофаминавая гипотеза”) [4]. Доказательствами ее правомерности могут служить положительные результаты клинического применения лекарственных средств, направленно воздействующих на синтез и обратный захват указанных нейромедиаторов [5], а также данные молекулярно-генетических исследований с использованием нокаутных животных-моделей СДВ [6, 7] и анализ наследования генетических дефектов среди пациентов с этим заболеванием [8].

В предыдущих работах, выполненных в Лаборатории радиоизотопных методов исследований ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”, были установлены значимые отличия в нейрорецепторном профиле префронтальной коры (ПФК) головного мозга аутистических мышей CD-1, различавшихся по устойчивости внимания к объектам в тесте “закрытый обогащенный крестообразный

* Адресат для корреспонденции: 125315 Москва, ул. Балтийская, 8; e-mail: geo-kovalev@yandex.ru, natalipharml@mail.ru.

лабиринт” (ЗОКЛ). Так, в ПФК животных субпопуляции ED-Low, обладавших исходным дефицитом внимания при фенотипировании в ЗОКЛ, плотность дофаминовых D_2 -рецепторов ($B_{\max}$) была выше в сравнении с данным показателем субпопуляции ED-High, принятых за норму. При этом показатель $B_{\max}$ для ГАМК_B-рецепторов у животных этой же субпопуляции, напротив, был снижен относительно контрольных групп ED-High [9–13]. Субхроническое введение ноотропных препаратов оказывало корректирующее влияние на количество мест связывания радиолигандов, специфичных для D_2 - и ГАМК_B-рецепторов, преимущественно в ПФК грызунов с нативным дефицитом внимания [9–12]. Обнаруженные количественные различия в распределении изученных подтипов рецепторов и значимые изменения данных биомаркеров при введении ноотропных препаратов позволили сделать предположение об их возможном участии в патогенезе СДВ в условиях его экспериментального моделирования.

В последние годы в дополнение к упомянутой выше “дофаминовой гипотезе” были получены данные, свидетельствующие о вовлечении глутаматергической нейромедиаторной системы в формирование СДВ [14]. Являясь одним из основных нейромедиаторов ЦНС, глутамат модулирует синаптическую пластичность, нейрональную активность — в том числе и секрецию дофамина. Процессы созревания областей головного мозга, отвечающих за обучение, консолидацию памяти в норме, также требуют участия глутаматергической системы [15]. С использованием методов neuroimaging было показано, что патофизиология дефицита внимания может быть сопряжена с изменением глутаматергической трансмиссии в участках префронтальной коры головного мозга, что может быть связано с наблюдаемыми у пациентов различного возраста с диагностированным СДВ-Г особенностями функционирования глутаматных рецепторов и их генов (делециями, дупликациями и полиморфизмом) [14, 16]. Метаботропные глутаматные рецепторы II группы, включающие в себя подтипы mGluR2 и mGluR3, экспрессируются в областях мозга, связанных с когнитивными функциями, памятью и эмоциональным статусом. С использованием ортостерического агониста LY354740 было показано их наличие в таких участках ЦНС, как префронтальная кора, таламус, стриатум и гиппокамп. Данный подтип рецепторов имеет преимущественно пресинаптическую локализацию, что делает его важным регуляторным звеном в нейрохимических процессах [17, 18]. Наличие функциональных взаимосвязей между катехоламиновой, ГАМК- и глутаматергической системами во фронтальных областях коры ГМ млекопитающих [19] создает предпосылки для поиска возможных терапевтических мишеней при патологии внимания, как правило, затрагивающей данную мозго-

вую структуру и, в частности, для продолжения экспериментального подтверждения перспективности применения ноотропных препаратов для коррекции СДВ.

Целью данного исследования стало сопоставление распределения метаботропных глутаматных рецепторов II группы (mGluR_{2/3}) в префронтальной коре мозга субпопуляций аутбредных мышей CD-1, исходно различающихся по фенотипу устойчивости внимания к новым объектам, а также оценка вовлечения этих рецепторов в механизм действия ноотропных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Эксперимент проводили на самцах аутбредных мышей CD-1, полученных из НПП “Питомник лабораторных животных” Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, массой 23–30 г. В исследовании использовались от 12 до 22 животных в каждой экспериментальной группе, содержащихся в виварии НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в стандартных условиях при свободном доступе к воде и корму.

Подробно протокол поведенческой процедуры, разработанной и апробированной в Лаборатории радиоизотопных методов исследований ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, описан ранее [13]. Кратко, во время 1-го теста производили отбор особей с соответствующими поведенческими фенотипами, различавшимися по уровню внимания к объектам в отсеках установки. Животным посредством внутрибрюшинных инъекций в течение 6 дней один раз в сутки вводили физиологический раствор, либо изучаемое вещество, растворенное в физрастворе. Во время 2-го теста, выполнявшегося в той же обстановке через 1 ч после заключительной инъекции, оценивали влияние изучаемого вещества на внимание к обстановке у мышей с известным типом исследовательской реакции на объекты, имеющиеся в лабиринте. Сразу после тестирования мышей декапитировали и выделяли префронтальную кору головного мозга [20], образцы которой затем немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературном холодильнике при -80°C до начала радиорецепторного анализа.

Вещества. Использовали субстанции препаратов пантогам и пантогам актив (ГК “ПИК-ФАРМА”, 100 и 200 мг/кг/день соответственно), фенибута (предоставлен чл.-корр. РАН И.Н. Тюренковым, ВолГМУ, Волгоград, 70 мг/кг/день), семакса (АО “ИНПЦ “Пептоген”, 0,6 мг/кг/день), ГИЖ-290 (2,6-диметиланилид (2-оксо-4-фенилпирролидин-1-ил) уксусной кислоты; Отдел химии лекарственных средств ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, 3 мг/кг/день). Атомоксе-

тина гидрохлорид (“Страттера”, 3 мг/кг/день) и пирацетам (200 мг/кг/день) приобретены в коммерческих источниках.

Радиолигандный анализ mGluII-рецепторов. Выделение мембран для радиолигандного анализа mGluII-рецепторов проводили по методу [21]. В день эксперимента ткани мозга размельчали в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло” в 25 объемах буфера (50 мМ Tris-HCl, pH 7.1). Гомогенат центрифугировали при 48000 g 10 мин. Полученный осадок гомогенизировали в буфере (50 мМ Tris-HCl, pH 7.1) и инкубировали при 37°C 10 мин, затем центрифугировали при 48000 g 10 мин. Осадок ресуспендировали в 5 объемах буфера и замораживали в криопробирках при –80°C. В день эксперимента мембраны размораживали и центрифугировали 3 раза в буфере (50 мМ Tris-HCl, 2 мМ MgCl₂, pH 7.4) 48000 g 10 мин. Осадок ресуспендировали в необходимом количестве буфера (50 мМ Tris-HCl, 2 мМ MgCl₂, pH 7.4). Концентрация белка в образцах мембран составляла 0.25 мг/мл.

Инкубационная смесь для радиолигандного анализа mGluII-рецепторов (конечный объем 0.5 мл) содержала 50 мкл [G-³H]LY354740, 200 или 250 мкл буфера (50 мМ Tris-HCl, 2 мМ MgCl₂, pH 7.4) и 200 мкл белковой суспензии мембран. Для неспецифического связывания добавляли 50 мкл немеченого лиганда (глутамат). Содержимое инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. По окончании инкубации пробы фильтровали через стекловолокнистые фильтры GF/B (Whatman), предварительно смоченные в 0.3% полиэтиленимине в течение 2-х ч при комнатной температуре. Каждую пробирку промывали два раза холодным буфером, затем фильтры промывали дважды тем же объемом буфера. Фильтры просушивали на воздухе и переносили в сцинтилляционные флаконы. Фильтры заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости на основе толуола (4 г PPO, 0.2 г POPOP на 1 л толуола). Радиоактивность проб определяли на счетчике Tri-Carb 2900TR (Perkin Elmer) с эффективностью счета 42–46%. Концентрацию белка в образцах определяли по стандартному методу Лоури [22].

Обработка и представление результатов. Для обработки экспериментальных данных использовали программу Statistica 6.0. и GraphPad Prism 8. Результаты экспериментов по радиолигандному связыванию *ex vivo* оценивали с помощью рассчитанных величин K_d и B_{max} , отражающих степень сродства рецептора к лиганду (нМ) и количество мест связывания лиганда (фмоль/мг белка), соответственно. Для анализа насыщения и получения характеристик связывания K_d и B_{max} измеряли специфическое связывание для mGluII-рецепторов от 12.5 до 200 нМ. Специфическое связывание рассчитывали как разницу между общим и

неспецифическим связыванием. Для построения кривых насыщения радиоактивного лиганда каждая концентрация исследуемого вещества была взята в 2-х повторностях. Результаты представлены в виде средних значений с учетом стандартной ошибки среднего “mean ± SEM”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе результатов экспериментов по радиолигандному связыванию [G-³H]LY354740 с mGluII-рецепторами префронтальной коры головного мозга (ГМ) аутистических мышей CD-1 были обнаружены статистически значимые отличия в распределении данного подтипа глутаматных рецепторов у животных, различавшихся по устойчивости внимания (табл. 1). Так, в префронтальной коре ГМ животных фенотипа ED-Low с нативным дефицитом внимания величина B_{max} , отражающая плотность рецепторов в изучаемой структуре мозга, была ниже в сравнении с тем же показателем у фенотипа ED-High, принятого в качестве нормы. В контрольных группах ED-Low снижение составило от 11.2 до 24.8% соответственно: $B_{max} = 1380 \pm 66$ и 1992 ± 94 фмоль/мг против 1679 ± 92 и 2242 ± 120 фмоль/мг у животных ED-High (*F*-критерий Фишера, $p < 0.05$).

Субхроническое введение атомоксетина гидрохлорида, использованного в качестве препарата сравнения в соответствии с показаниями для фармакологической коррекции СДВ-Г, не оказывало влияния на показатели радиолигандного связывания с mGluII-рецепторами. Аналогичные результаты были получены и для таких ноотропов, как пирацетам, пантогам и пантогам актив (табл. 1).

Напротив, нейропептид семакс в дозе 0.6 мг/кг в выбранном режиме введения избирательно увеличивал количество мест связывания [G-³H]LY354740 в ПФК животных опытных групп субпопуляции ED-Low на 19% по сравнению с соответствующим контролем, $B_{max} = 2097 \pm 92.4$ фмоль/мг против 1762 ± 69.2 фмоль/мг в контроле (*F*-критерий Фишера, $p < 0.05$). Субхроническое введение производного 4-фенилпирролидона, ГИЖ-290, в дозе 3 мг/кг также приводило к увеличению плотности mGluII-рецепторов на 22% у фенотипа ED-Low, $B_{max} = 2430 \pm 101$ фмоль/мг против 1991.5 ± 94.3 фмоль/мг в соответствующем контроле (*F*-критерий Фишера, $p < 0.05$).

Наиболее существенные изменения величины B_{max} для mGluII-рецепторов были выявлены в ПФК животных ED-Low, получавших β-фенил-γ-аминомасляную кислоту, фенибут, в дозе 70 мг/кг внутривентрикулярно. Под воздействием препарата данный количественный показатель в опытной группе возрастал на 60%, $B_{max} = 2208 \pm 110$ фмоль/мг против 1380 ± 66 фмоль/мг в соответствующем

Таблица 1. Влияние субхронического введения ноотропных препаратов на показатели радиолигандного связывания [G-³H]LY354740 с mGluII-рецепторами в префронтальной коре субпопуляций мышей CD-1 *ex vivo* (*m* ± SEM)

Препараты (доза)/ Экспериментальная группа	Контроль ED-High	Препарат ED-High	Параметры связывания [G- ³ H]LY354740						Контроль ED-Low	Препарат ED-Low
	<i>B</i> _{max} , фмоль/мг белка	<i>K</i> _d , мкМ	<i>B</i> _{max} , фмоль/мг белка	<i>K</i> _d , мкМ	<i>B</i> _{max} , фмоль/мг белка	<i>K</i> _d , мкМ	<i>B</i> _{max} , фмоль/мг белка	<i>K</i> _d , мкМ	<i>B</i> _{max} , фмоль/мг белка	<i>K</i> _d , мкМ
Атомоксетин (3 мг/кг/сутки)	1679 ± 92	224.6 ± 19.8	1659 ± 75	206.7 ± 15.4	1390 ± 68*	206.8 ± 16.7	1239 ± 68	214.2 ± 19.2		
Пирацетам (200 мг/кг/сутки)	1988 ± 114.9	197.7 ± 19.2	1602 ± 88.9	187.6 ± 17.8	1600 ± 79.6*	184.2 ± 16.6	1361 ± 67.7	180.3 ± 15.5		
ГИЖ-290 (3 мг/кг/сутки)	2242 ± 120	188.7 ± 15.8	2317.6 ± 135.1	182.2 ± 18.3	1991.5 ± 94.3*	181.0 ± 14.8	2430 ± 101[#]	192.8 ± 13.6		
Фенибут (70 мг/кг/сутки)	1681 ± 90	221.6 ± 20.8	1608 ± 85	210.3 ± 18.3	1380 ± 66*	206.8 ± 16.7	2208 ± 110[#]	207.5 ± 17.0		
Семакс (0,6 мг/кг/сутки)	2114 ± 82.9	172.2 ± 11.9	2437 ± 99.2	173.5 ± 12.4	1762 ± 69.2*	175.3 ± 12.1	2097 ± 92.4[#]	183.1 ± 13.9		
Пантогам (100 мг/кг/сутки)	1990 ± 116.5	197.7 ± 19.2	1999 ± 130.9	191.2 ± 21.3	1516 ± 79.6*	184.2 ± 16.6	1549 ± 90.8	190.6 ± 19.0		
Пантогам актив (200 мг/кг/сутки)	2150 ± 80.9	172.2 ± 11.9	1902 ± 96.5	194.3 ± 16.7	1771 ± 70.2*	175.3 ± 12.1	1630 ± 79.3	178.3 ± 15.1		

Примечание: * статистически значимое отличие между субпопуляциями, *F*-критерий Фишера, *p* < 0.05, [#] статистически значимое отличие между контрольной и опытной группами, *p* < 0.05.

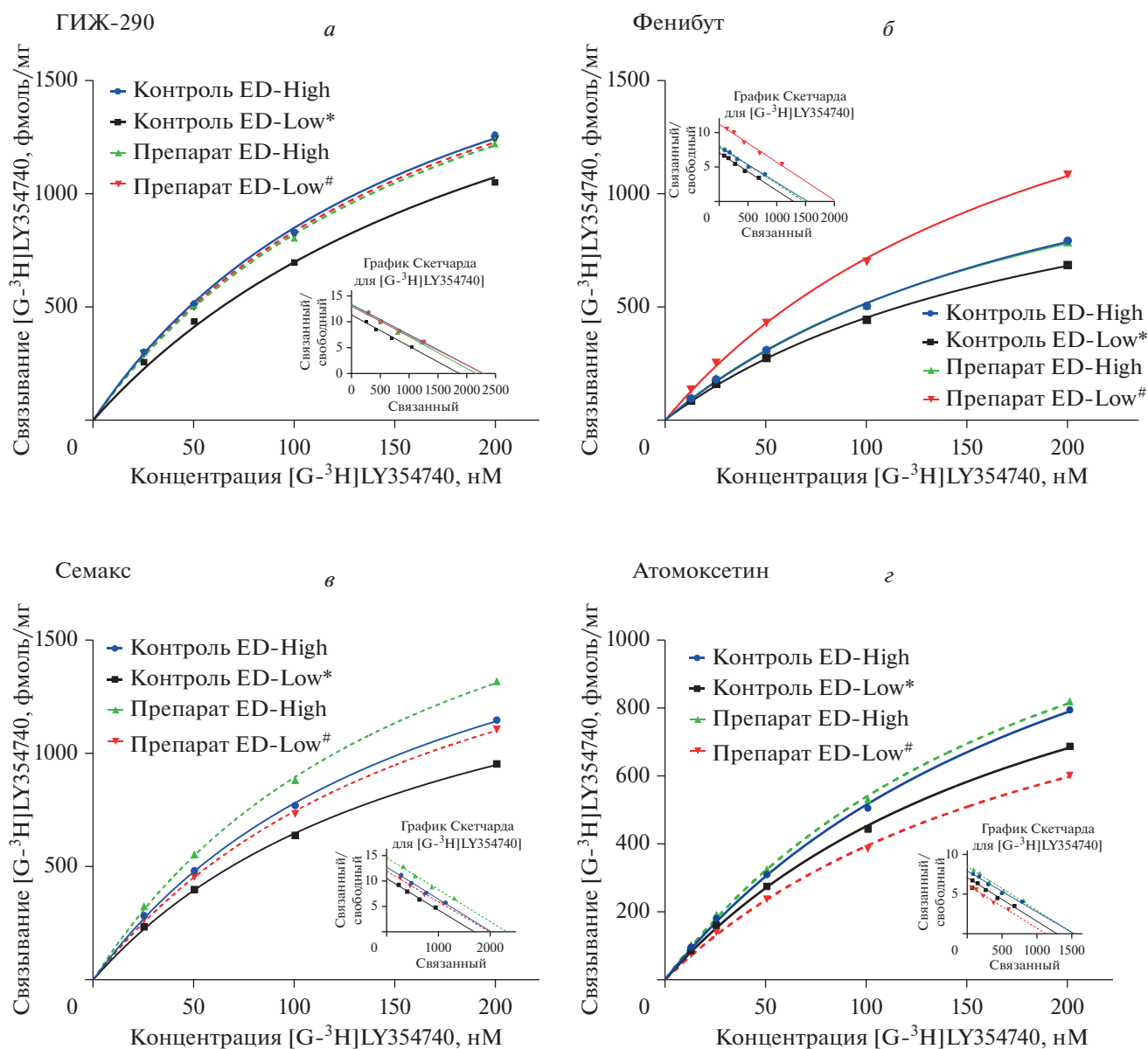


Рис. 1. Влияние субхронического введения препаратов на радиолигандное связывание $[G-^3H]LY354740$ с mGluR2-рецепторами префронтальной коры головного мозга субпопуляций аутбредных мышей CD-1 *ex vivo* (а – ГИЖ-290 (3 мг/кг/сутки), б – фенибут (70 мг/кг/сутки), в – семакс (0.6 мг/кг/сутки), г – атомоксетин (3 мг/кг/сутки), (кривая насыщения и график Скетчарда для $[G-^3H]LY354740$). Примечание: * статистически значимое отличие между субпопуляциями, F -критерий Фишера, $p < 0.05$; # статистически значимое отличие между контрольной и опытной группами, $p < 0.05$.

контроле ED-Low (F -критерий Фишера, $p < 0.05$), и был приближен к контрольным значениям ED-High (табл. 1, рис. 1). Экспериментальные величины K_d , полученные для контрольных и опытных групп субпопуляций грызунов, не отличались статистически достоверно для всех использованных в исследовании препаратов. Нейрохимические нарушения при СДВ корректируются применением у пациентов препаратов из группы психостимуляторов и антидепрессантов, оказывающих активное направленное действие на высвобождение и метаболизм соответствующих нейромедиаторов.

Однако подобная эффективность нередко сопряжена со значимыми побочными эффектами и риском дальнейшего развития их злоупотребления больными СДВ во взрослом возрасте. Используемый в настоящее время в клинической практике ингибитор обратного захвата норадреналина атомоксетина гидрохлорид (“Стратерра”) обладает меньшим потенциалом формирования зависимости по сравнению, например, со психостимуляторами, что делает перспективным изучение возможности использования при СДВ препаратов иных фармакологических групп.

В связи с объективной необходимостью поиска лекарственных средств, отвечающих требованиям клинической безопасности при их применении и эффективно воздействующих на патогенетические маркеры СДВ нами была выполнена серия работ по обоснованию применения препаратов ноотропной группы для фармакотерапии дефицита внимания.

В сериях экспериментов, проведенных в Лаборатории радиоизотопных методов исследований, было показано, что субхроническое введение ноотропных препаратов в выбранных дозах оказывает нормализующее влияние на поведение грызунов ED-Low в тесте “закрытый обогащенный крестообразный лабиринт” (ЗОКЛ), сопоставимое с эффектами препарата сравнения атомоксетина гидрохлорида [9–12, 23]. Так, по уровню эффективности восстановления величины Obj_tR в субпопуляции ED-Low все исследованные ноотропы расположились в следующей последовательности (по уменьшению): фенибут > атомоксетин = семакс > > пантогам > пирацетам > пантогам актив.

При изучении нейрохимического механизма действия ноотропных препаратов различной химической структуры при их применении в условиях моделирования СДВ в тесте ЗОКЛ были получены следующие данные. Воздействие ноотропных препаратов на распределение дофаминовых и ГАМК-рецепторов в ПФК головного мозга характеризовалось избирательностью в отношении субпопуляций экспериментальных животных. Кроме того, нейро-рецепторные эффекты в фармакологическом спектре изучаемых препаратов включали в себя модуляцию D₂- и ГАМК_B-рецепторов как в отдельности, так и совместно. По степени уменьшения соотношения величин Bmax (препарат/контроль) в отношении D₂-рецепторов ноотропы образовали следующую последовательность (по убыванию): семакс = пантогам = пантогам актив > фенибут > > атомоксетин; (пирацетам неактивен) [9–12, 23].

Аналогичная последовательность для ГАМК_B-рецепторов представлена следующим образом: пирацетам > фенибут > пантогам > пантогам актив; (атомоксетин и семакс неактивны) [9–12, 23].

Представленные в настоящей работе результаты свидетельствуют о возможном вовлечении mGluII-рецепторов как компонента глутаматергической нейромедиаторной системы в патогенезе СДВ. Возможно, что метаботропные глутаматные рецепторы вместе с ГАМК_B-рецепторами осуществляют модулирующее воздействие на пресинаптическую деятельность катехоламиновых нейронов в коре головного мозга. Действительно, mGluII- и ГАМК_B-рецепторы относятся к т.н. классу C рецепторов, связывающих G-белок (GPCRs). Рецепторы этого класса являются наиболее сложными по сравнению с другими GPCRs, их субъединицы формируют крупные внеклеточные т.н. “домены ве-

нериной мухоловки”, которые связывают агонисты и контактируют с G-белок-активируемым 7-петлевым трансмембранным доменом [24].

Показано также, что метаботропные глутаматные рецепторы префронтальной коры мозга, также, как и D₂-дофаминовые, и ГАМК_B-рецепторы, участвуют в механизме действия ноотропных препаратов в плане коррекции ими дефицита внимания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, впервые показано, что мозг мышей, фенотипически характеризующихся дефицитом внимания, обладает меньшей плотностью mGlu2/3-рецепторов в префронтальной коре.

Кроме того, установлено, что для изученных ноотропов наибольшую эффективность избирательного воздействия на плотность mGluII-рецепторов проявляют производное ГАМК фенибут, пептидный препарат семакс и соединение ГИЖ-290, тогда как другие препараты оказались неэффективными. Необходимо отметить, что при одинаковой направленности действия семакса, ГИЖ-290 и фенибута на показатели радиолигандного связывания [³H]LY354740 при субхроническом введении меньшие по сравнению с фенибутом дозы первых (0,6, 3 и 70 мг/кг соответственно) указывают на перспективность использования их в качестве средств для терапии СДВ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0521-2019-0009 “Анализ рецепторных механизмов и поиск средств фармакологической протекции ЦНС при нарушениях мозгового кровообращения и когнитивных расстройствах”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Организация экспериментов соответствовала этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург; “Правила надлежащей лабораторной практики”, утвержденные приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016.). Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 33215-2014 и 33216-2014). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Michele di F., Prichet L., John E. R., Chabot R. J. // International Journal of Psychophysiology. 2005. № 58. P. 81–93.
2. Arnsten A.F.T. // CNS Drugs. 2009. № 23. Suppl. 1. P. 33–41.
3. Bush G. // Neuropsychopharmacology Reviews. 2010. № 35. P. 278–300.
4. Arnsten A.F.T., Pliszka S.R. // Pharmacol. Biochem. Behav. 2011. V. 99. № 2. P. 211–216.
5. Faraone S.V. // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2018. № 87. P. 255–270.
6. Van der Kooij M.A., Glennon J.C. // Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 2007. № 31. P. 597–618.
7. Leo D., Gainetdinov R.R. // Cell Tissue Res. 2013. № 354. P. 259–271.
8. Asherson P., Gurling H. // Behavioral neuroscience of attention deficit hyperactivity disorder and its treatment / Eds Stanford C., Tannock R. Springer-Berlin, Heidelberg. 2012. P. 238–273.
9. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М. // Биомедицинская химия. 2021. Т. 67. № 5. С. 402–410.
10. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. № 4. С. 3–11.
11. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Кондрахин Е.А., Васильева Е.В., Салимов Р.М. // Химико-фармацевтический журнал. 2021. Т. 55. № 8. С. 10–14.
12. Ковалёв Г.И., Сухорукова Н.А., Кондрахин Е.А., Васильева Е.В., Салимов Р.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2021. Т. 84. № 6. С. 3–10.
13. Ковалёв Г.И., Салимов Р.М., Сухорукова Н.А., Кондрахин Е.А., Васильева Е.В. // Нейрохимия. 2020. Т. 37. № 1. С. 1–9.
14. Moretto E., Murru L., Martano G., Sassone J., Passafaro M. // Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry. 2018. № 84. P. 328–342.
15. Mukherjee S., Manahan-Vaughan D. // Neuropharmacology. 2013. № 66. P. 65–81.
16. Elia J., Glessner J., Wang K., Shtir C. // Nat. Genet. 2012. № 44. P. 78–84.
17. Chaki S., Ago Y., Palucha-Paniewiera A., Matrisciano F., Pilc A. // Neuropharmacology. 2013. № 66. P. 40–52.
18. Marek G.J. // European Journal of Pharmacology. 2010. V. 639. P. 81–90.
19. Pozzi L., Baviera M., Sacchetti G., Calcagno E., Balducci C., Invernizzi R.W., Carli M. // Neuroscience. 2011. V. 176. P. 336–348.
20. Glowinski J., Iversen L.L. // J Neurochem. 1966. V. 13. № 8. P. 655–669.
21. Schaffhauser H., Richards J.G., Cartmell J., Chaboz S., Kemp J.A. // Mol. Pharmacol. 1998. V. 53. № 2. P. 228–233.
22. Waterborg J.H., Matthews H.R. // Methods Mol. Biol. 1984. V. 1. P. 1–3.
23. Сухорукова Н.А., Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Ковалёв Г.И. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2022. № 2. С. 23–31.
24. Kniazeff J., Prezeau L., Rondard P., Pin J., Bettler B. // Pharmacol. Ther. 2011. V. 130. № 1. P. 9–25.

Phenibut, Semax and GIZh-290 Modulate Cortical mGluII Receptors in an Attention Deficit Model in Mice

N. A. Sukhorukova^a, E. V. Vasileva^a, and G. I. Kovalev^a

^a Zakusov Research Institute of Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

In our previous experiments, it was found that the nootropic drugs piracetam (200 mg/kg/day, intraperitoneally), pantogam (100), pantogam active (200), phenibut (70), semax (0.6), as well as a new derivative of racetam GIZh-290 (3) and the comparison drug atomoxetine (3.0) as a result of subchronic administration, attention stability to new objects is restored in the “closed enriched cross maze” test, showing selectivity of the effect in relation to a subpopulation of CD-1 mice with an initially low attention index (ED-Low). In this study, the effect of nootropics on metabotropic glutamate receptors (mGluRII) in the prefrontal cortex of these mice was studied using the receptor binding of a specific radioligand [$G-^3H$]LY354740. It was found that the density (B_{max}) of mGluRII receptors in the brains of subpopulation with the ED-Low phenotype was 11–25% lower than in subpopulation with the ED-High phenotype. None of the drugs had an effect on these receptors in the subpopulation with the ED-High phenotype, whereas phenibut, semax and GIZh-290 showed efficacy with respect to the ED-Low phenotype, increasing B_{max} values by 60, 19 and 22%, respectively. Thus, it was shown for the first time that mGluRII are involved in the pathogenesis of attention impairment, and the ability of phenibut, semax and GIZh-290 (2,6-dimethylanilide (2-oxo-4-phenylpyrrolidine-1-yl) acetate to selectively normalize the reduced density of these receptors indicates the prospects of their use in as a drugs for the treatment of attention deficit disorder.

Keywords: attention deficit syndrome, modeling, “closed enriched cross maze” test, nootropic drugs, atomoxetine, radioligand analysis, metabotropic glutamate receptors

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 616.858:615.214

ВЛИЯНИЕ ПИРАЦЕТАМА И НООПЕПТА НА NMDA- И 5-HT_{2A}-РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА МЫШЕЙ С ВРОЖДЕННЫМ ДЕФИЦИТОМ β -АРРЕСТИНА

© 2023 г. Ю. Ю. Фирстова¹, *, Г. И. Ковалёв¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 08.11.2022 г.

После доработки 22.12.2022 г.

Принята к публикации 28.12.2022 г.

Основываясь на особой роли сигнального белка β -аррестина в процессах нейрональной пластичности и активации рецепторов, были изучены эффекты ноотропных препаратов Пирацетама (2-оксо-1-пирролидинацетамид, UCB 6215) (200 мг/кг, в/б) и Ноопепта (ГВС-111 – этиловый эфир *N*-фенил-ацетил-L-пролилглицина) (0.5 мг/кг, в/б) на мышах с врожденным дефицитом β -аррестина-2 (мыши BARR2-KO) и у мышей линии C57Bl/6 (дикий тип для линии BARR2KO, WT). В качестве объекта исследования были выбраны серотониновые (5-HT_{2A}) и NMDA-рецепторы мозга, играющие важную роль в когнитивных процессах, но различающиеся по типу строения и механизму активации. С помощью радиолигандного анализа было установлено, что линия мышей BARR2-KO отличается от мышей C57Bl/6 значительно более высокой плотностью ($B_{\max}$) как NMDA-рецепторов в гиппокампе (на 85%), так и 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга (на 54%). Интересно, что оба препарата после хронического введения увеличивали количество NMDA-рецепторов в гиппокампе как у линии BARR2-KO (Пирацетам – на 76%, Ноопепт – на 78%), так и у линии C57Bl/6 (Пирацетам – на 112%, Ноопепт – на 49%). При этом влияние обоих препаратов на плотность серотониновых 5-HT_{2A}-рецепторов у мышей BARR2-KO и C57Bl/6 оказалось не одинаковым. В частности, Пирацетам вызывал возрастание плотности 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга мышей BARR2-KO на 31%, тогда как на линию сравнения C57Bl/6 ни Пирацетам, ни Ноопепт влияния не оказывали. Таким образом, отсутствие сигнального белка β -аррестина у мышей линии BARR2-KO сопровождается увеличением плотности NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторов в мозге. Вместе с тем, однонаправленность воздействия Пирацетама и Ноопепта на NMDA-рецепторы как у линии с врожденным дефицитом β -аррестина, так и у линии с нормальной экспрессией может указывать, что этот тип рецепторов является общей функциональной мишенью для действия ноотропов различной структуры.

Ключевые слова: Пирацетам, Ноопепт, NMDA-рецепторы, 5-HT_{2A}-рецепторы, β -аррестин-2, мыши BARR2-KO, мыши C57Bl/6

DOI: 10.31857/S102781332302005X, **EDN:** UCLJRS

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с концепцией об индивидуальной чувствительности к психотропным препаратам [1] в предыдущих исследованиях мы использовали различные типологические отличия как между, так и внутри мышей инбредных линий BALB/c и C57Bl/6, проводя сравнение действия ноотропных препаратов на их поведенческие и биохимические характеристики [2–4]. Кроме того, нами были задействованы модели с фенотипическими отличиями внутри аутбредной линии ICR [5–7]. В результате удалось обозначить общие и специфические нейрорецепторные мишени для дей-

ствия различных по химической структуре ноотропов [8]. Так, после субхронического и хронического режимов введения большинство изученных препаратов (Пирацетам, Нооплютил, Пантогам, Семакс, Ацефен) оказывали в экспериментах *ex vivo* воздействие на плотность мест связывания NMDA-рецепторов и 5-HT₂-рецепторов в мозге мышей, различающихся по фенотипу, не конкурируя за места связывания обоих радиолигандов в условиях *in vitro* [5, 9]. Для углубления представления о характере влияния ноотропов различного строения на данные типы рецепторов, участвующие в когнитивных процессах, представлялось актуальным перенести подобные исследования на линии мышей с генетическими модификациями. Для этого была выбрана линия мышей с “нокаутом”

* Адресат для корреспонденции: 125315 Москва, ул. Балтийская, 8, тел. 495 601 2051; e-mail: kovalev@academpharm.ru, firstovaj@mail.ru.

гена сигнального белка β -аррестина-2 (BARR2-KO), сравниваемая с диким типом (линия C57Bl/6). Было выдвинуто предположение, что отсутствие этого сигнального белка может отразиться на функциональном состоянии как серотониновых (метаботропных), так и глутаматных NMDA (ионотропных) рецепторов. Действительно, аррестины демонстрируют удивительную универсальность, взаимодействуя с сотнями различных подтипов рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR), многочисленными нереперторными сигнальными белками и компонентами механизмов интернализации, а также элементами цитоскелета, включая микротрубочки и центросомы [10]. Существует два основных типа внутриклеточных сигнальных механизмов, которые могут быть вызваны активацией рецепторов GPCR: G-белок-зависимый и β -аррестин-опосредованный G-белок-независимый. β -аррестин участвует как в независимой от G-белка внутриклеточной передаче сигналов, так и в прекращении передачи сигналов GPCR [11, 12]. Аррестины прекращают рецепторные взаимодействия с G-белками, перенаправляют передачу сигналов на различные альтернативные пути и организуют интернализацию (транспорт) рецептора и последующий внутриклеточный трафик [13].

Дефицит β -аррестина-2 сильно изменяет эффекты дофаминергических препаратов. При исследовании активации Akt в ответ на дофаминергические препараты у мышей C57Bl/6 и BARR2-KO обнаружено значительное снижение фосфорилирования Akt в стриатуме мышей WT после инъекции амфетамина или апоморфина. Напротив, введение этих двух препаратов не оказывало влияния на фосфорилирование Akt у мышей BARR2-KO [14].

Отсутствие β -аррестина-2 отражается также на эффектах серотонин-ергических препаратов, опосредуемых GPCR. В экспериментах по сравнению действия серотонина и синтетического галлюциногенного 5-HT_{2A}-агониста DOI (R-2,5-диметокси-4-йодамфетамина) на мышей, лишенных β -аррестина-2, показано, что как серотонин, так и DOI индуцируют фосфорилирование ERK1/2 в клетках нокаутной линии, тогда, как в клетках мозга мышей дикого типа фосфорилирование ERK1/2 наблюдалось только под действием серотонина [15].

Поскольку серотонин модулирует быструю ионотропную глутаматергическую нейротрансмиссию, можно ожидать, что изменение в уровне β -аррестина-2 отразится и на эффектах NMDA-рецепторов. На данный момент информация о состоянии глутаматергической системы у мышей BARR2-KO отсутствует [16, 17], поэтому в данной работе в качестве объекта исследования выбраны серотониновые 5-HT_{2A} (метаботропные) и глутаматные NMDA (ионотропные) рецепторы, вовлеченные в когнитивные процессы и взаимодействующие друг с другом.

Кроме того, функциональное состояние именно этих двух нейромедиаторных систем является маркером дефицита когнитивного поведения [5, 8], в связи с чем представилось актуальным изучить влияние ноотропных препаратов на эти типы рецепторов у мышей с врожденным дефицитом β -аррестина-2.

Таким образом, задачами настоящего исследования стали: (а) изучение плотности NMDA-рецепторов в гиппокампе и 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга мышей с нокаутным геном β -аррестина-2 (BARR2-KO) и у мышей C57Bl/6 (WT) с перспективой дальнейшего использования данной генетической патологии в исследованиях механизмов действия психотропных препаратов, и (б) сравнение специфичности действия ноотропного препарата Пирацетама и его топологического дипептидного аналога Ноопепта на NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторы мозга мышей с врожденным дефицитом β -аррестина-2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Исследования по радиолигандному связыванию проводили в структурах мозга мышей с нокаутным геном β -аррестина-2 (мыши BARR2-KO) [18]. В качестве контрольной группы использовали животных генетически родственного штамма C57Bl/6 с полной экспрессией β -аррестина-2 (дикий тип, WT). Животных разделяли на группы: 1 группа — BARR2-KO — контроль (физиологический раствор), 2 группа — BARR2-KO — Пирацетам (200 мкг/мг/сутки), 3 группа — BARR2-KO — Ноопепт (0.5 мг/кг/сутки), 4 группа — C57Bl/6 — контроль (физиологический раствор), 5 группа — C57Bl/6 — Пирацетам (200 мкг/мг/сутки), 6 группа — C57Bl/6 — Ноопепт (0.5 мг/кг/сутки). В каждой группе было по 10 мышей самцов с массой 30–35 г. При проведении экспериментов *ex vivo* физиологический раствор (контрольная группа — NaCl, 0.9%), либо препараты (опытные группы) вводили животным посредством внутрибрюшинных инъекций в течение 14 дней, один раз в сутки. Эвтаназию животных проводили через 24 часа после последней инъекции с помощью цервикальной дислокации с последующей декапитацией. Головной мозг извлекали при температуре тающего льда и выделяли гиппокамп и кору мозга у каждого животного по схеме (Glowinski and Iversen, 1966) [19].

Вещества. Пирацетам (USB), Ноопепт (синтезирован в ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В.Закусова”), (+)МК–801, 8-OH-DPAT, Tris-HCl, HEPES, Na₄EDTA, NaCl, CaCl₂, KCl, MgSO₄ (все — Sigma), реактив Фолина (Merck), жидкостно-сцинтилляционный раствор на основе толуола (ХимМед).

Радиоактивные лиганды рецепторов. При изучении рецепторного связывания использовали следующие лиганды: для глутаматных рецепторов NMDA-подтипа в гиппокампе — $[G-^3H](+)$ МК-801 (210 кюри/ммоль) [20]; для серотониновых рецепторов 2 типа в коре — $[G-^3H]-(+)$ Кетансерин (40 кюри/ммоль) [21].

Радиолигандный анализ. Выделение плазматических мембран гиппокампа проводили по модифицированному методу Zhou (1997) [20]. После декапитации ткань немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературном холодильнике при -85°C . В день эксперимента гиппокампы размельчали в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло” в 10 объемах буфера № 1 (5 mM HEPES, 4.5 mM Tris, 0.32 M сахараза, pH 7.6). Гомогенат разбавляли 50 объемами буфера № 2 (5 mM HEPES, 4.5 mM Tris, pH 7.6) и центрифугировали при 1000 g 10 мин на ультрацентрифуге “Optima L-70K” (Beckman Coulter). Супернатант сливали и вновь центрифугировали при 25000 g 20 мин. Для увеличения выхода белка эту операцию проводили дважды. Полученный осадок ресуспендировали в 50 объемах буфера № 2 и центрифугировали при 8000 g 20 мин. Супернатант и верхний коричневый осадочный слой сливали и центрифугировали при 25000 g 20 мин. Осадок ресуспендировали в 50 объемах буфера № 3 (5 mM HEPES, 4.5 mM Tris, 1 mM Na_4EDTA , pH 7.6) и троекратно центрифугировали при 25000 g 20 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 50 объемах буфера № 2 и однократно центрифугировали при 25000 g 20 мин. Конечный осадок сохраняли в 5 объемах буфера № 2 и замораживали в криопробирках в жидком азоте. В день анализа ткань размораживали, разбавляли в 10 объемах буфера № 2, центрифугировали при 25000 g 20 мин. Осадок ресуспендировали в необходимом количестве буфера № 2. Концентрация белка в суспензии мембран составляла 2–3 мг/мл.

Радиорецепторное связывание с 5- HT_{2A} -рецепторами серотонина проводили по методу Leysen (1982) [21] с модификациями. Для этого кору мозга гомогенизировали в 10 мл ледяного ($0-4^{\circ}\text{C}$) 50 mM Tris (pH 7.4) в гомогенизаторе Поттера “тефлон–стекло”. Полученную суспензию центрифугировали при 40000 g в течение 20 мин в “Optima L-70K” (Beckman Coulter). После этого супернатант сливали, осадок ресуспендировали повторной гомогенизацией в том же объеме буфера, затем повторно центрифугировали. Процедуру отмывки проводили трижды, полученный осадок ресуспендировали в 10 мл инкубационного буфера и использовали по 250 мкл в процедуре связывания с меченым лигандом серотонинового рецептора.

Реакционная смесь (конечный объем 0.5 мл) содержала 200 мкл буфера, 50 мкл меченого лиганда $[G-^3H](+)$ МК-801 для NMDA рецепторов и

$[G-^3H]$ -Кетансерина для серотониновых рецепторов 2А подтипа (в диапазоне концентраций от 0.1 до 30 нМ) и 250 мкл суспензии мембран. Реакционную смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч. По окончании инкубации пробы фильтровали через стекловолокнистые фильтры GF/B (Whatman), предварительно смоченные в 0.3% полиэтиленимине в течение 2 ч при 40°C . Каждую пробирку промывали один раз холодным буфером № 2, затем фильтры промывали три раза тем же объемом буфера. Фильтры просушивали на воздухе и переносили в сцинтилляционные флаконы. Фильтры заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости на основе толуола (4 г PPO, 0.2 г POPOP на 1 л толуола).

Радиоактивность определяли на счетчике Tri-Carb 2900TR (Perkin Elmer) с эффективностью счета 42–46%. Концентрацию белка измеряли по стандартной методике Лоури (1951).

Для анализа кривой насыщения и получения характеристик связывания B_{max} и K_d измеряли специфическое связывание в диапазоне концентраций от 0.01 до 20 нМ. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 50 мкл немеченого лиганда (20 мкМ). Специфическое связывание рассчитывали, как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Все эксперименты по связыванию выполняли в трех повторностях.

Для определения параметров специфического связывания $[G-^3H](+)$ МК-801 и $[G-^3H]$ -Кетансерин с мембранами (равновесной константы диссоциации K_d и плотности рецепторов B_{max} — максимальной связывающей способности в расчете на 1 мг белка) строили график зависимости отношения молярных концентраций связанного (B) и свободного (F) меченого лиганда от молярной концентрации связанного меченого лиганда (B) (график Скэтчарда) с помощью программы GraphPad Prism 4 Demo.

Статистический анализ. Для обработки результатов радиолигандного связывания использовали программу GraphPad Prism 4 Demo. Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0 (“Stat Soft”, Tulsa, OK, USA). При обработке полученных результатов использовали метод параметрической статистики (F-критерий Фишера). Представлены средние значения с учетом стандартной ошибки среднего ($\text{mean} \pm \text{SEM}$)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментах по связыванию радиолигандов значения K_d для связывания как с NMDA-, так и с 5- HT_{2A} -рецепторами были одинаковыми у мутантных и контрольных мышей. Однако величина B_{max} , характеризующая плотность рецепто-

Таблица 1. Характеристики связывания $[G-^3H](+)$ МК-801 с NMDA-рецепторами гиппокампа после субхронического введения Пирацетама и Ноопепта ($m \pm SEM$)

Группа животных	B_{max} , фмоль/мг	K_d , нМ
BARR2-КО—Контроль	3262 ± 399	16 ± 3.4
BARR2-КО—Пирацетам	$5761 \pm 921^*$	19 ± 5.1
BARR2-КО—Ноопепт	$5798 \pm 818^*$	11 ± 3.2
C57Bl/6—Контроль	$1762 \pm 232^\#$	17 ± 3.8
C57Bl/6—Пирацетам	$3739 \pm 235^*$	12 ± 1.5
C57Bl/6—Ноопепт	$2606 \pm 104^*$	11 ± 0.9

Достоверное отличие между контрольными группами, $p < 0.0001$. * Достоверное отличие между опытной и контрольной группой, $p < 0.0001$ (F-критерий Фишера).

Таблица 2. Характеристики связывания $[G-^3H](+)$ Кетансерина с 5-НТ_{2А}-рецепторами после субхронического введения Пирацетама и Ноопепта ($m \pm SEM$)

Группа животных	B_{max} , фмоль/мг	K_d , нМ
BARR2-КО—Контроль	488 ± 79	7 ± 2.7
BARR2-КО—Пирацетам	$640 \pm 78^*$	4 ± 1.5
BARR2-КО—Ноопепт	429 ± 43	7 ± 1.7
C57Bl/6—Контроль	$315 \pm 30^\#$	5 ± 1.2
C57Bl/6—Пирацетам	338 ± 29	5 ± 1.2
C57Bl/6—Ноопепт	268 ± 27	4 ± 1.3

Достоверное отличие между контрольными группами, $p < 0.003$. * Достоверное отличие между контрольной и опытной группой, $p < 0.0003$ (F-критерий Фишера).

ров для NMDA-рецепторов, у мышей BARR2-КО была 3262 ± 399 фмоль/мг, а у линии сравнения C57Bl/6 эта величина составила 1762 ± 232 фмоль/мг (табл. 1). B_{max} для 5-НТ_{2А}-рецепторов у линии BARR2-КО составил 488 ± 79 фмоль/мг и у линии C57Bl/6 — 315 ± 30 фмоль/мг (табл. 2). Таким образом, мозгу нокаутной линии мышей присуща более высокая плотность обоих типов рецепторов.

В результате 2-недельного введения исследуемых ноотропов происходит значительное увеличение числа мест связывания NMDA-рецепторов в гиппокампах мышей линии BARR2-КО и C57Bl/6. У линии BARR2-КО Пирацетам повышал значения B_{max} с 3262 ± 399 до 5761 ± 921 фмоль/мг, а Ноопепт с 3262 ± 399 до 5798 ± 818 фмоль/мг по сравнению с контрольной группой (рис. 1), (табл. 1). При этом и Пирацетам, и Ноопепт также увеличивали количество мест связывания NMDA-рецепторов и у линии C57Bl/6. Пирацетам повышал значения B_{max} с 1762 ± 232 до 3739 ± 235 фмоль/мг, а Ноопепт, соответственно с 1762 ± 232 до 2606 ± 104 фмоль/мг (рис. 1, табл. 1).

В предыдущих наших исследованиях после субхронического введения Пирацетама и Ноопепта также обнаруживалось увеличение B_{max} для NMDA-рецепторов в гиппокампах инбредных мышей C57Bl/6 и BALB/c [22, 23]. Можно допустить, что стимуляция NMDA-рецепторов гиппо-

кампа может являться общим признаком в механизме действия ноотропных препаратов в независимости от специфических различий нейрохимического статуса линий мышей.

Напротив, в отношении количества 5-НТ_{2А} рецепторов эффекты хронического введения Пирацетама и Ноопепта проявились по-разному: после введения Пирацетама в мозге мышей нокаутной линии BARR2-КО наблюдалось повышение величины B_{max} для 5-НТ_{2А} рецепторов с 488 ± 79 до 640 ± 78 фмоль/мг, тогда как пептидный препарат Ноопепт не изменял значения B_{max} (429 ± 43). Кроме того, хроническое введение обоих ноотропов мышам линии C57Bl/6 не влияло на количества 5-НТ_{2А}-рецепторов в коре мозга (рис. 2, табл. 2).

Увеличение плотности NMDA-рецепторов в гиппокампе и 5-НТ_{2А}-рецепторов в коре у нокаутных по аррестину мышей, по-видимому, может зависеть от разных механизмов. Увеличение количества мест связывания для 5-НТ_{2А}-рецепторов у линии BARR2-КО некоторые авторы связывают с нарушением их интернализации вследствие недостатка аррестина [16]. Однако, существуют данные о возможности прямого влияния активации 5-НТ-рецепторов на характеристики NMDA-рецепторов. Исследования Eunice и соавторов показали [24], что активация 5-НТ_{1А}-рецепторов

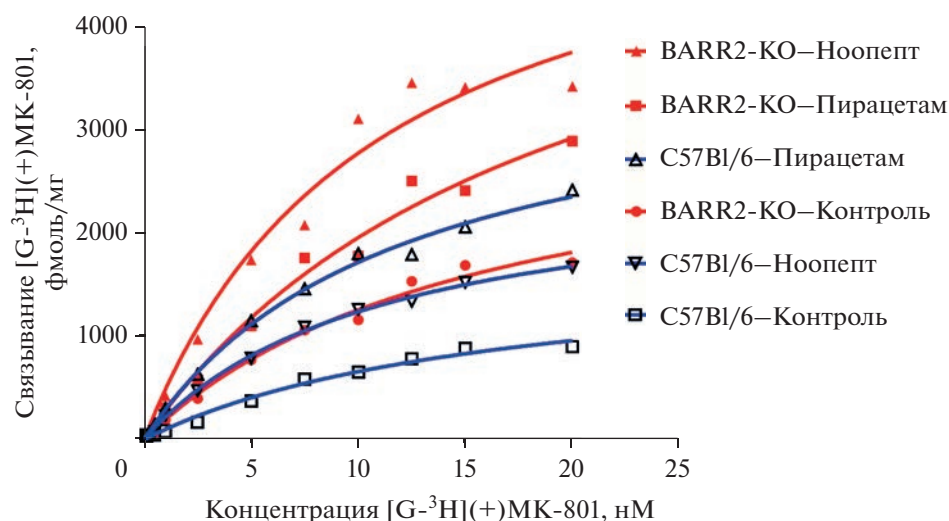


Рис. 1. Влияние Пирацетама и Ноопепта на связывание $[G-^3H](+)$ МК-801 с NMDA рецепторами гиппокампа мозга мышей линии BARR2-KO и C57Bl/6 ($m \pm SEM$).

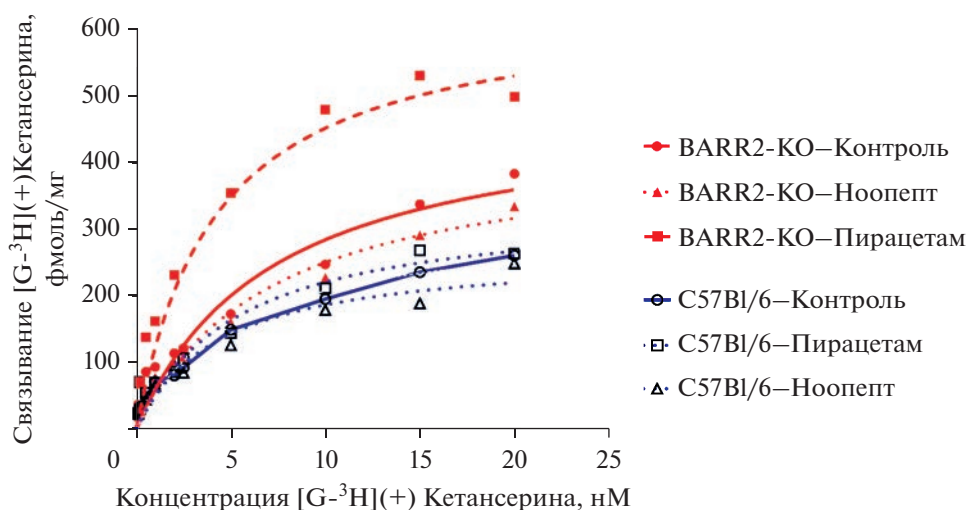


Рис. 2. Влияние Пирацетама и Ноопепта на связывание $[G-^3H](+)$ Кетансерина с $5-HT_{2A}$ рецепторами коры мозга мышей линии BARR2-KO и C57Bl/6 ($m \pm SEM$).

приводит к деполяризации микротрубочек, из-за чего происходит нарушение транспорта NMDA-рецепторов и ослабление ионных токов. В свою очередь, активация $5-HT_{2A}$ -рецепторов значительно ослабляет ингибирующее влияние $5-HT_{1A}$ -рецепторов на микротрубочки, что обеспечивает увеличение транспорта NMDA-рецепторов к поверхностной мембране. Нокдаун гена β -аррестина-2 в клеточной культуре предотвращает блокирующий эффект $5-HT_{2A}$ -рецепторов на ингибирующее действие $5-HT_{1A}$ -рецепторов на микротрубочки, что приводило к увеличению NMDA-рецепторных токов [24].

Следовательно, полученные нами данные о значительном увеличении числа мест связывания

лигандов NMDA-рецепторов у линии BARR2-KO можно связать с нехваткой этого сигнального белка, отсутствие которого приводит к разному направленному действию на активацию различных типов серотониновых рецепторов. Таким образом, дефицит β -аррестина-2 может значительно отражаться на экспрессии рецепторов и их внутриклеточных перемещениях, а также на количестве активных центров как метаболитного, так и ионотропного типов рецепторов.

Наличие серотонин-позитивного эффекта у классического ноотропа Пирацетама на животных с пониженным содержанием сигнального белка β -аррестина-2 согласуется с ранее полученными нами данными о модулирующем характере

действия веществ с ноотропным эффектом (пирацетама, семакса, пантокальцина и нооглютила) на плотность 5-HT_{2A}-рецепторов в мозге мышей с фенотипом сниженного исследовательского поведения [9]. Выявленная же в настоящей работе разнонаправленность эффектов Пирацетама и Ноопепта на серотониновые рецепторы может быть обусловлена тем, что дефицит β -аррестина-2 сильно изменяет эффекты дофаминергических [14] и серотонинергических препаратов [15]. Обнаруженное в эксперименте увеличение количества 5-HT_{2A}-рецепторов серотонина у нокаутных мышей предположительно связано с их большим присутствием на внешней мембране нейрона, что согласуется с данными о важной роли аррестина в интернализации серотониновых рецепторов. У мышей с дефицитом β -аррестина-2 в кортикальных нейронах 5-HT₂-рецепторы присутствуют только на внешней мембране, тогда как у интактных мышей они почти полностью внутриклеточной локализации, что позволяет допустить роль аррестинов в транспортировке рецепторов 5-HT₂ [16].

ВЫВОДЫ

Таким образом, нами получены сведения о количественных характеристиках NMDA- и 5-HT_{2A}-рецепторов в мозге мышей с врожденным дефицитом аррестина. В данной работе обнаружено увеличение плотности специфических мест связывания NMDA-рецепторов в гиппокампе и 5-HT_{2A}-рецепторов в коре мозга линии мышей BARR2-KO по сравнению с линией C57Bl/6. Описанные отличия в нейрорецепторном статусе линий BARR2-KO и C57Bl/6 делают данную модель генетической патологии актуальной для изучения механизмов действия ноотропных препаратов.

При сравнении специфичности действия ноотропного препарата Пирацетама и его топологического дипептидного аналога Ноопепта на линии мышей BARR2-KO было установлено, что их влияние на плотность 5-HT_{2A}-рецепторов различно, тогда как влияние на плотность NMDA-рецепторов оказалось схожим. Специфическое действие Пирацетама проявилось в увеличении числа 5-HT_{2A}-рецепторов только у нокаутной линии BARR2-KO, тогда как хроническое введение Ноопепта не изменяло плотность этих рецепторов в мозге у обеих линий. Однонаправленность действия Пирацетама и Ноопепта проявилась в увеличении плотности NMDA-рецепторов в мозге обеих линий. Эти результаты позволяют предполагать, что именно NMDA-рецепторы могут являться общей частью в механизмах действия ноотропных препаратов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Государственного задания FGFG-2022-0006 “Фармакологическая коррекция cerebro-васкулярных и сопряженных когнитивных расстройств с их нейрорецепторным анализом”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Организация экспериментов соответствовала этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных (Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург; Правила надлежащей лабораторной практики”, утвержденные приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016.). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Середенин С.Б., Вальдман Е.А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2003. Т. 66. № 2. С. 57–59.
2. Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2014. Т. 77. № 12. С. 3–9.
3. Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М. // Нейрохимия. 2013. Т. 30. № 2. С. 128–134.
4. Кондрахин Е.А., Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Психиатрия. 2010. № 3. С. 50–54.
5. Фирстова Ю.Ю. Изучение путей модуляции синоптической пластичности в нейробиохимическом действии ноотропных препаратов. Дисс. ... канд. биол. наук. М. 2008. 139 с.
6. Ковалев Г.И., Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2007. Т. 71. № 1. С. 12–17.
7. Фирстова Ю.Ю., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Психофармакология и биологическая наркология. 2007. № 7. С. 2–6.
8. Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78. № 3. С. 31–32.
9. Фирстова Ю.Ю., Васильева Е.В., Ковалёв Г.И. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2018. № 3. С. 42–47.
10. Gurevich V., Gurevich E. // Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2013. V. 118. P. 57–92.
11. Attramadal H., Arriza J.L., Aoki C., Dawson T.M., Codina J., Kwatra M.M., Snyder S.H., Caron M.G., Lefkowitz R.J. // Journal of Biological Chemistry. 1992. V. 267. P. 17882–17890.
12. Ferguson S.S., Downey W.E., Colapietro A.M., Barak L.S., Menard L., Caron M.G. // Science. 1996. V. 271. № 5247. P. 363–366.

13. Gurevich V., Gurevich E. // Arrestins Structure and Function in Vision and Beyond. Academic Press, 2022. Ch. 7. P. 105–124.
14. Beaulieu J.M., Sotnikova T.D., Marion S., Lefkowitz R.J., Gainetdinov R.R., Caron M.G. // Cell. 2005. V. 122. P. 261–273.
15. Schmid C.L., Raehal K.M., Bohn L.M. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 2008. V. 105. № 3. P. 1079–1084.
16. Latapy C., Beaulieu J. // Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2013. V. 118. P. 276–295.
17. Lefkowitz R.J., Shenoy S.K. // Science. 2005. V. 308. № 5721. P. 512–517.
18. Bohn L.M., Lefkowitz R.J., Gainetdinov R.R., Peppel K., Caron M.G., Lin F.-T. // Science. 1999. V. 286. № 5449. P. 2495–2498.
19. Glowinski J., Iversen L.L. // Journal Neurochemistry. 1966. V. 13. № 8. P. 655–669.
20. Zhou L.M., Gu Z.Q., Costa A.M., Yamada K.A., Mansson P.E. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1997. V. 280. № 1. P. 422–427.
21. Leysen J.E., Niemegeers C.J., Van Nueten J.M. // Molecular Pharmacology. 1982. V. 21. № 2. P. 301–314.
22. Ковалёв Г.И., Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Незнамов Г.Г. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013. Т. 76. № 9. С. 3–10.
23. Кондрахин Е.А., Салимов Р.М., Ковалев Г.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018. Т. 81. № 50. С. 119–121.
24. Eunice Y. Yuen, Qian Jiang, Paul Chen, Jian Feng, Zhen Y. // Journal of Biological Chemistry. 2008. V. 283. № 25. P. 17194–17204.

The Effect of Piracetam and Noopept on NMDA and 5-HT_{2A} Receptors in the Brain of Mice with Congenital β -Arrestin Deficiency

Yu. Yu. Firstova^a and G. I. Kovalev^a

^a Federal State Budgetary Scientific Institution “V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology”, Moscow, Russia

Based on the special role of the signal protein β -arrestin in the processes of neuronal plasticity and receptor activation, the effects of the nootropic drugs Piracetam (2-oxo-1-pyrroldinyl-acetamide, UCB 6215, 200 mg/kg, I.P.) and Noopept (ethyl ether *N*-phenyl-acetyl-L-prolyl-glycine, GVS-111, 0.5 mg/kg, I.P.) in mice with congenital deficiency of β -arrestin-2 (BARR2-KO mice) and in mice of the C57Bl/6 line (wild type for the BARR2-KO, WT line). Serotonin (5-HT_{2A}) and NMDA-receptors of the brain, which play an important role in cognitive processes, but differ in the type of structure and activation mechanism, were chosen as the object of the study. Using radioligand analysis, it was found that the BARR2-KO mouse line differs from the C57Bl/6 mice by a significantly higher density ($B_{\max}$) of both NMDA-receptors in the hippocampus (by 85%) and 5-HT_{2A}-receptors in the cerebral cortex (by 54%). Interestingly, both drugs after chronic administration increased the number of NMDA-receptors in the hippocampus both in the BARR2-KO strain (Piracetam – by 76%, Noopept – by 78%) and in the C57Bl/6 strain (Piracetam – by 112%, Noopept – by 49%). At the same time, the effect of both drugs on the density of serotonin 5-HT_{2A}-receptors in BARR2-KO and C57Bl/6 mice was not the same. In particular, Piracetam caused an increase in the density of 5-HT_{2A}-receptors in the cerebral cortex of BARR2-KO mice by 31%, whereas on the comparison line C57Bl/6 neither Piracetam nor Noopept had any effect. Thus, the absence of the β -arrestin signaling protein in BARR2-KO mice is accompanied by an increase in the density of NMDA- and 5-HT_{2A}-receptors in the brain. At the same time, the different effects of Piracetam and Noopept on NMDA receptors both in the line with congenital β -arrestin deficiency and in the line with normal expression may indicate that this type of receptor is a common primary target for the action of nootropics of various structures.

Keywords: Piracetam, Noopept, NMDA-receptors, 5-HT_{2A}-receptors, β -arrestin-2, BARR2-KO mice, C57Bl/6 mice

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 577.25

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ SNARE-КОМПЛЕКСА В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ МОДЕЛИРУЕМЫХ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

© 2023 г. А. А. Перевезенцев¹, *, К. Б. Лебедева-Георгиевская¹,
О. С. Кузнецова¹, А. С. Штемберг¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр
Российской Федерации Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Поступила в редакцию 26.09.2022 г.

После доработки 09.01.2023 г.

Принята к публикации 16.01.2023 г.

Наши предыдущие исследования показывают изменения в работе головного мозга крыс как на поведенческом, так и на биохимическом уровнях организации, вызванные воздействием моделируемого в эксперименте одного из критических факторов межпланетного космического полета, а именно космической радиации. Таким образом, возникает вопрос, затрагивают ли эти изменения и молекулярные процессы, лежащие в основе работы головного мозга. Для анализа на молекулярном уровне нами были выбраны белки, входящие в SNARE-комплекс (soluble NSF attachment receptor), которые осуществляют процессы слияния внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью. Соответственно, цель нашей работы заключалась в определении изменений уровня мРНК, кодирующей различные белки из структуры SNARE-комплекса, под влиянием ионизирующего излучения, моделирующего солнечный ветер — один из ключевых факторов дальнего космического полета. Исследованию подвергались ткани гиппокампа, являющегося ключевым отделом мозга, отвечающим за нейрогенез и механизмы памяти. Полученные данные свидетельствуют о наличии изменений в некоторых элементах SNARE-комплекса после облучения; кроме того, есть косвенные свидетельства того, что изменения зависят от исходных типологических характеристик животных. Таким образом, мы можем говорить о том, что нарушения в работе центральной нервной системы (ЦНС) после облучения в дозах, сравнимых с дозами, получаемыми при совершении межпланетного космического полета, наблюдаются на всех уровнях организации работы головного мозга.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, космические лучи, солнечный ветер, нейрoхимия, экспрессия, SNARE, крысы, PCR, гиппокамп

DOI: 10.31857/S1027813323020103, EDN: UCRDZM

ВВЕДЕНИЕ

Результаты многолетних исследований как изолированного, так и комбинированного воздействия моделируемых в эксперименте факторов космического полета на особенности работы головного мозга крыс демонстрируют изменения на различных уровнях организации ЦНС. В зависимости от типа и продолжительности воздействия наблюдаются изменения как в поведении животных, так и в работе моноаминергической системы головного мозга, в первую очередь в структурах, связанных с когнитивными функциями, таких как префронтальная кора и гиппокамп [1–3].

В связи с наблюдаемыми изменениями в моноаминергической системе головного мозга крыс

при моделировании факторов космического полета возникает логичный вопрос: как данные изменения выражены на молекулярном уровне? Поскольку в более ранних работах [4, 5] мы фиксировали статистически значимые различия в поведении и его нейрoхимическом обеспечении между группами крыс с противоположными типологическими характеристиками (преимущественно тормозного, тревожного типа, с преобладанием пассивно-оборонительного поведения, или преимущественно возбудимого, менее тревожного типа с преобладанием исследовательского поведения), мы пришли к выводу, что при отборе животных для анализа необходимо учитывать и типологические характеристики высшей нервной деятельности (ВНД). Наиболее ярко роль типологических характеристик была выявлена в экспериментах с приматами [6] в которых они играли

* Адресат для корреспонденции: Хорошевское ш., 76а, Москва, 123007; e-mail: perezx@me.com.

определяющую роль в характере поведенческих реакций животных на указанные воздействия.

Литературные данные, освещающие молекулярные механизмы изменений в работе ЦНС, вызванных ионизирующим излучением, достаточно редки. К примеру, было показано, что действие гамма-облучения в дозе по 5 Гр 9 раз в течение месяца приводит к повышению экспрессии генов NR1 и NR2A субъединиц NMDA рецепторов гиппокампа в области CA1 [7].

На данный момент крайне мало работ, связанных с исследованием влияния ионизирующего излучения на работу синаптического трафика. Однако есть множество косвенных доказательств вовлечения этого ключевого нейротрансмиссионного процесса в патофизиологическую картину, наблюдаемую после облучения. Так, было показано, что воздействие тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ) ^{16}O с энергией 1 ГэВ/н в дозе 1 Гр приводит к эффектам, сходным с эффектами старения: оксидантному стрессу, воспалительной реакции и снижению аутофагии [8]. В то же время, снижение аутофагии и старение неразрывно связаны с потерей нормальной функции синаптического трафика [9, 10]. Для оценки вовлеченности молекулярных процессов работы головного мозга в наблюдаемые изменения нейрохимических и когнитивных нарушений мы решили проанализировать экспрессию генов белков, входящих в структуру SNARE-комплекса.

Таким образом, цель нашей работы заключалась в определении влияния ионизирующего излучения на уровень мРНК, кодирующей различные белки, входящие в структуру SNARE-комплекса. Для этого мы сравнили результаты ПЦР-РВ (qPCR), показывающие содержание молекул мРНК, кодирующих ключевые белки SNARE-комплекса, для контрольных и облученных животных. Облученные животные при этом были разделены на две типологических группы – “тревожные” (“альтруисты” по методике П.В. Симонова) и “нетревожные” (“эгоисты”), что дает возможность попарного сравнения “обученные–контроль (вся выборка)” и “тревожные–нетревожные” [19].

SNARE-комплекс представляет собой большую группу внутриклеточных белков (у млекопитающих насчитывается около 60 молекул), осуществляющих слияние внутриклеточных транспортных везикул с клеточной мембраной или органеллой-мишенью. Для изучения изменения работы SNARE-комплекса были проанализированы изменения в экспрессии генов, кодирующих ключевые белки, входящие в его состав или опосредованно связанные с его работой. В качестве анализируемой структуры был выбран гиппокамп, являющийся наиболее очевидной мишенью для ионизирующих излучений в силу наличия в нем зоны активного нейрогенеза. Оценивалось содержа-

ние белков: синтаксина 1 и SNAP-25 в изоформах А и В, синаптобrevина, альфа-синуклеина, комплексиона, синаптотагмина, DNAJ5 и Munc18.

Синтаксин 1 и SNAP-25 составляют одну из ключевых структур SNARE-комплекса, обеспечивая слияние мембран. Синаптобrevин, как часть VAMP-системы, находится на поверхности мембраны доставляемой пресинаптической везикулы. Альфа-синуклеин – специфический белок, находящийся в пресинаптических терминалях, который играет определенную роль в поддержании постоянного количества синаптических везикул в пресинаптических терминалях путем их кластеризации [10, 11]. Другой функцией данного белка можно назвать регулирование высвобождения дофамина в синаптическую щель; кроме того, при болезни Паркинсона показано патологическое накопление данного белка в виде телец Леви [11, 12]. Учитывая тот факт, что в наших предыдущих исследованиях в первую очередь страдала именно дофаминергическая система [6, 12], особое внимание стоит уделить именно альфа-синуклеину.

Биохимические и генетические данные, полученные в том числе и на трансгенных животных, свидетельствуют о том, что синаптотагмин функционирует в качестве датчика содержания ионов Ca^{2+} , существенно ускоряя высвобождение нейромедиаторов за счет присоединения синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной при взаимодействии со SNAP-25 [14, 15].

Munc18 связывается синтаксином и образует с ним единый комплекс, регулирующий обратный захват везикул [16]. Кроме этого, стоит отметить, что изоформа Munc 18-1 играет и другие роли в процессе экзоцитоза и повышает стабильность синтаксина [17].

Комплексин также участвует в работе SNARE-комплекса, он действует как ингибитор и катализатор синаптических везикул, модулируя высвобождение нейромедиатора. В одной конформации комплексин зажимает комплексы SNAREpin, предотвращая слияние везикул, в то время как в другой конформации он освобождает SNAREpins, позволяя синаптотагмину вызвать слияние мембраны [18]. Стоит отметить, что комплексин не является необходимым белком для экзоцитоза синаптических везикул, однако, он увеличивает высвобождение нейромедиаторов на 60–70%, как показали нокаут-мыши, трансгенные по синтезу комплексина [20].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент является развитием предыдущих работ авторов (например, [1, 5]), в каковых детали методов исследования описаны более подробно.

Использованные животные. В эксперименте исходно задействовано 100 голов крыс-самцов

Таблица 1. Параметры типологизации животных

Параметр	Группа			
	общая	“нетревожные”	“тревожные”	контроль
Время ср.	252	121	294	258
Входы	3.4	7.8	1	2.8
Время медиана	281	130	294	278

линии Wistar весом (на начало эксперимента) 200 г из собственного вивария ИМБП. Животные содержались в стандартных лабораторных клетках по 8 особей в клетке, доступ к воде и корму (гранулированный полнорационный) свободный, световой день 12 ч, температура воздуха +22°C, влажность 40%.

Структура эксперимента. Эксперимент проводился в течение 2 мес. в следующем порядке:

1. Типологизация — 1 нед. (исходная выборка из 100 животных разделена на 3 партии, по 2 дня на партию, как описано ниже);
2. Воздействие — 1 день (фактическое пребывание под пучком — десятки секунд), на 3-й день после завершения типологизации;
3. Умерщвление животных посредством гильотинирования и забор проб — на 7-й день после воздействия;
4. Выполнение анализов.

Воздействие. Для моделирования радиационного фактора космического полета в наземном эксперименте было проведено однократное (быстрое — на протяжении единиц-десятков секунд) облучение головы животных протонами в дозе 1 Гр с энергией 170 МэВ на протонном ускорителе на базе Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск). Выбор режима облучения основывался на том, что протоны составляют значимую часть галактического космического излучения (более 90%). Характеристики облучения были подобраны исходя из видовой радиочувствительности крыс, в соответствии с расчетной дозой, которая может быть получена космонавтами в межпланетном полете. После проведенного сеанса облучения животные подвергались эвтаназии путем декапитации. Для последующего изучения головной мозг животного разделяли на структуры, подвергавшиеся немедленной заморозке в жидком азоте и последующей гомогенизации путем центрифугования в пробирке со стальными шариками. В данной работе исследовали гиппокамп.

Типологизация животных. Для типологизации животных использовали модифицированную методику избегания закрытого темного пространства при крике раздражаемой особи (методика “эмоционального резонанса”) по П.В. Симонову [19]. Успешность применения этой методики для определения типологических характеристик животных показана в работе [4].

Тестовая установка состоит из трех отсеков: соединенных проходом светлого и затемненного — для испытуемой крысы и изолированного “шокового” для “жертвенной” крысы. При нахождении испытуемой крысы в светлом отсеке “жертвенная” крыса не подвергается никаким воздействиям, а во все время, что испытуемая крыса проводит в темном отсеке, “жертвенная” получает удары электрическим током через решетчатый металлический пол, энергия одного импульса 0.04 Дж, период следования — 1 с. “Жертвенная” крыса при этом подает звуковые и обонятельные сигналы тревоги, которые через перфорированную стенку получает испытуемая; соответственно, у последней возникает противоречие между естественным желанием перейти из светлого отсека в темный и возникающим при этом дискомфортом от сигналов сородича.

Тестирование проводилось в течение 2 дней по 5 мин (300 с) на каждое животное. Как правило, на второй день животные, привыкая к установке и тесту, показывают более широкий разброс поведенческих реакций и далее такой разброс сохраняется на постоянной основе. Изначально крысу высаживали в дальний от входа в темный отсек угол светлого отсека. Регистрировали количество входов в темный отсек и общее время, проведенное в темном отсеке. Эти параметры имеют обратную зависимость и показаны в табл. 1. Животные, показавшие максимальную активность (число входов), считаются возбудимыми, минимальную — тормозными.

По результатам типологизации были отобраны три группы по 8 животных: “тревожные” и “нетревожные” с показателями, соответствовавшими максимумам/минимумам измеренных величин и “контроль”, подобранная таким образом, чтобы средние показатели группы были максимально близки к средним показателям общей выборки. Животные, не вошедшие ни в одну из групп, выведены из эксперимента. Разделение животных на группы и проведение анализов осуществлялись разными экспериментаторами, что обеспечивает т.н. “слепой эксперимент”.

Анализ экспрессии генов. Для анализа молекулярных механизмов нейробиологических эффектов ионизирующего излучения использовали метод обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (qRT-PCR). Используемые нуклеотидные последовательности представлены в табл. 2.

Тотальную РНК экстрагировали из гиппокампа животных, используя ExtractRNA — аналог

Таблица 2. Нуклеотидные последовательности праймеров qRT-PCR

Genes	Primers	
	forward	reverse
β -Actin	5'-CACTGCCGCATCCTCTTCCT-3'	5'-AACCGCTCATTGCCGATAGTG-3'
Synaptobrevin (sfc) VAMP-2	5'-GCATCTCTCCTACCCTTTCA-3'	5'-TTAGGGGTCTGAGGGTACA-3'
Syntaxin 1A (stx)	5'-ATGAAGGACCGAACCCAGGAGC	TCTATCCAAAGATGCCCCGA
SNAP-25A	5'-AGGACGCAGACATGCGTAATGAAGTGGAGG	TTGGTTGATATGGTTCATGCCTTCTTCGACACGA
SNAP-25B		CTTATTGATTGGTCCATCCCTTCTCTCAATGCGT
Munc18	5'-AGACATCATGACCGAGGGGA-3'	5'-AGACGGGGTGATGAGGTACA-3'
Synaptotagmin 1 (syt)	5'-CTGTGCCACACAATGCCACT-3'	5'-AAGGACCGCAACTATGGCT-3'
Complexin 1	5'-ATGGAGTTCGTGATGAAACAAG-3'	5'-TTACTTCTTGAACATGTCCTGCA-3'
Complexin 2	5'-ATGGACTTCGTGATGAAGCA	5'-TTACTTCTTGAACATGTCCTGCA-3'
CSP-a (DNAJC5)	5'-AAGGCGCTGTCGTCTGCTG	CATGATTCTAAGGTTGCAGTGGCC-3'

тризола, предлагаемый компанией Евроген (Россия) и стандартный хлороформный фенол. Обратная транскрипция выполнялась набором MMLV RT со случайным гексамером, для определения использовались заранее подобранные праймеры (Eurogen, Россия) по инструкции производителя, комплект manual. Уровни экспрессии генов анализировали с помощью qRT-ПЦР. qPCRmix-HS SYBR (Eurogen, Россия) был добавлен к соответствующим образцам кДНК и праймеров. ПЦР производилась с помощью термочиклера BioRad CFX96 (лаборатории Bio-Rad, США) с β -актином в качестве эталонного гена для всех образцов. Для последующего сравнения уровней экспрессии гена использовали ΔC_q и $\Delta\Delta C_q$, рассчитанные по формуле $2^{-(\Delta\Delta C_q)}$ в соответствии с [21]. Полученные данные сравнивались между собой.

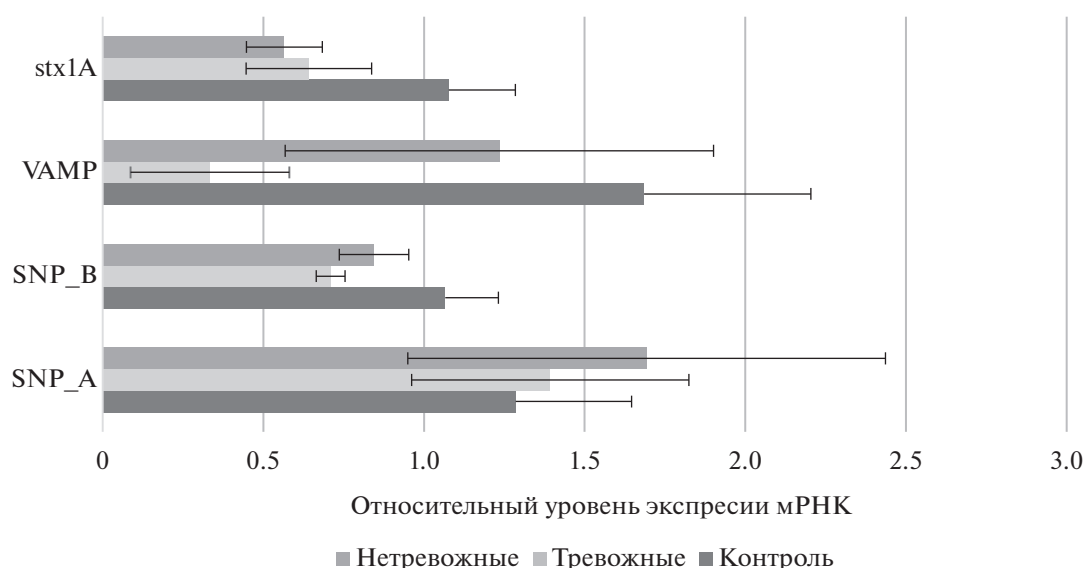
Достоверность различий оценивалась с использованием ANOVA post-hoc Duncan's test при сравнении между собой всех трех групп (кон-

троль, “тревожные” и “нетревожные” по отдельности). При проведении сравнения между двумя группами — контроль и экспериментальные животные без разделения на тревожных и нетревожных — использован непараметрический критерий Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ содержания в тканях гиппокампа количественной ПЦР для выбранных генов белков, входящих в состав SNARE-комплекса, не обнаружил существенных отличий между группами контрольных и облученных животных (вне зависимости от их типологии) для большинства белков SNARE-комплекса. Данные представлены на рис. 1 и 2.

Исходя из данных, представленных на рис. 1 и 2, значимых изменений не наблюдается, хотя можно заметить некоторые тенденции к уменьшению экс-

**Рис. 1.** Экспрессия мРНК синтаксина-1 и синаптобrevинов.

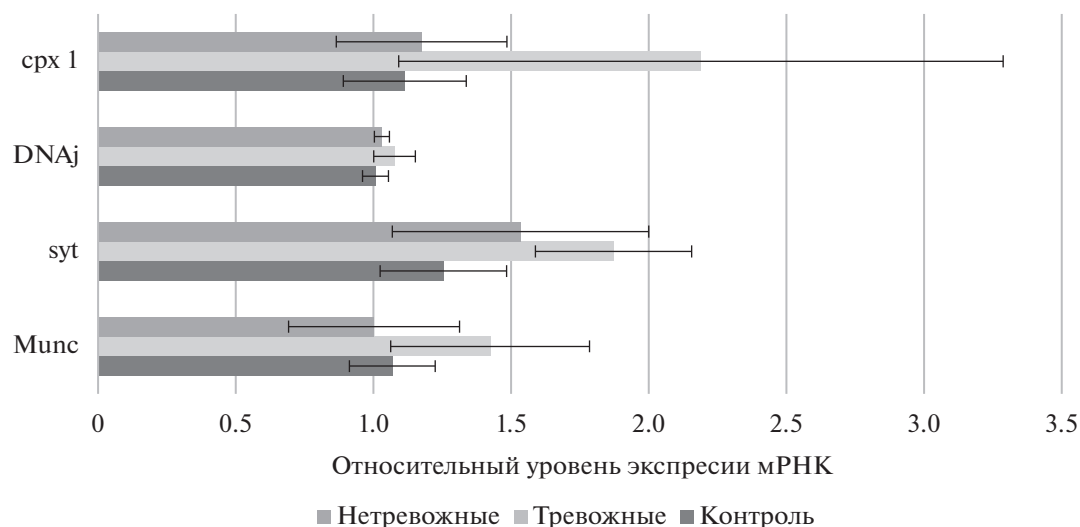


Рис. 2. Экспрессия мРНК комплексина, DNAj, синаптотагмина и Munc.

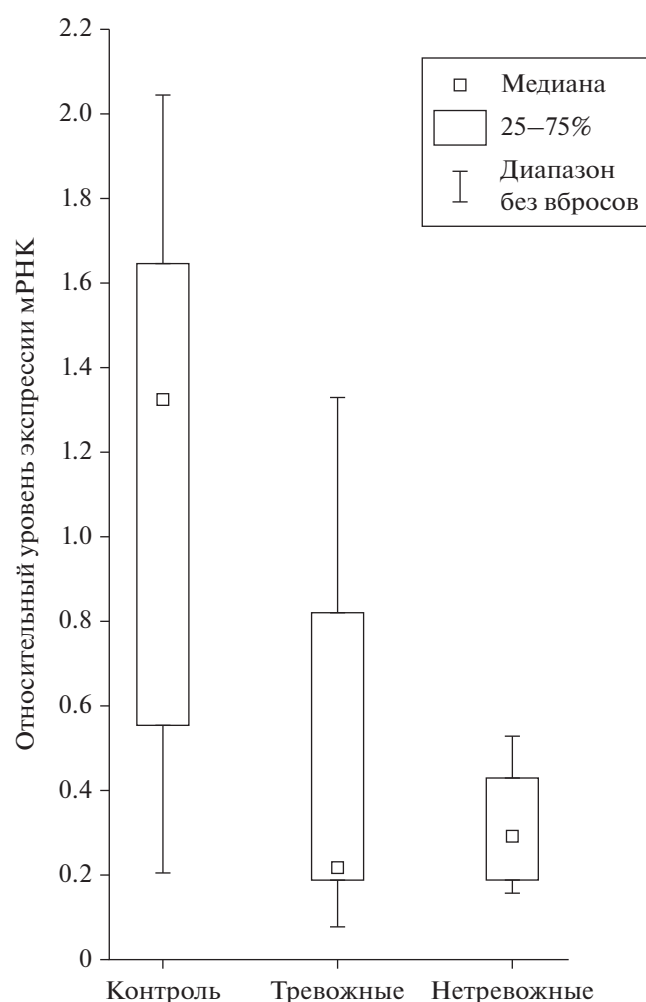


Рис. 3. Экспрессия мРНК альфа-синуклеина облученных и интактных крыс.

прессии SNAP-25 В у группы “тревожных” животных относительно контрольных и “нетревожных”. Статистически значимых различий в содержании комплексина, синаптотагмина и DNAJC5 между контрольными, “тревожными” и “нетревожными” животными обнаружено не было.

Кроме того можно заметить существенное, более чем в два раза, снижение экспрессии синаптотобренина у группы “тревожных” по сравнению с контролем (на 80.19%) и группой “нетревожные” (на 72.97%). Полученные результаты могут быть связаны с высокой гетерогенностью данных в рамках одной группы совместно с малым числом исследованных животных.

На рис. 3 представлены медианные данные количественного ПЦР для белка альфа-синуклеина. Наблюдается заметное снижение содержания альфа-синуклеина после облучения; кроме того, данные разнятся в зависимости от типологической характеристики. Статистически значимыми при этом являются отличия между группами “контроль” и “нетревожные животные” (Anova post hoc test $p = 0.02$).

Было решено также проанализировать отличия в результатах ПЦР между контролем и облученными животными без деления по типологизации. Достоверные отличия зафиксированы для альфа-синуклеина и синтаксина-1. Результаты представлены на рис. 4 и 5 соответственно.

Таким образом, мы наблюдаем значительное снижение уровня экспрессии мРНК альфа-синуклеина и синтаксина-1 после облучения. Синтаксин-1 играет ключевую роль в работе SNARE-комплекса, отвечая за слияние мембран. Примечательно, что экспрессия мРНК, кодирующих белки, задействованные в этом процессе вместе с синтаксином, достоверно не изменилась.

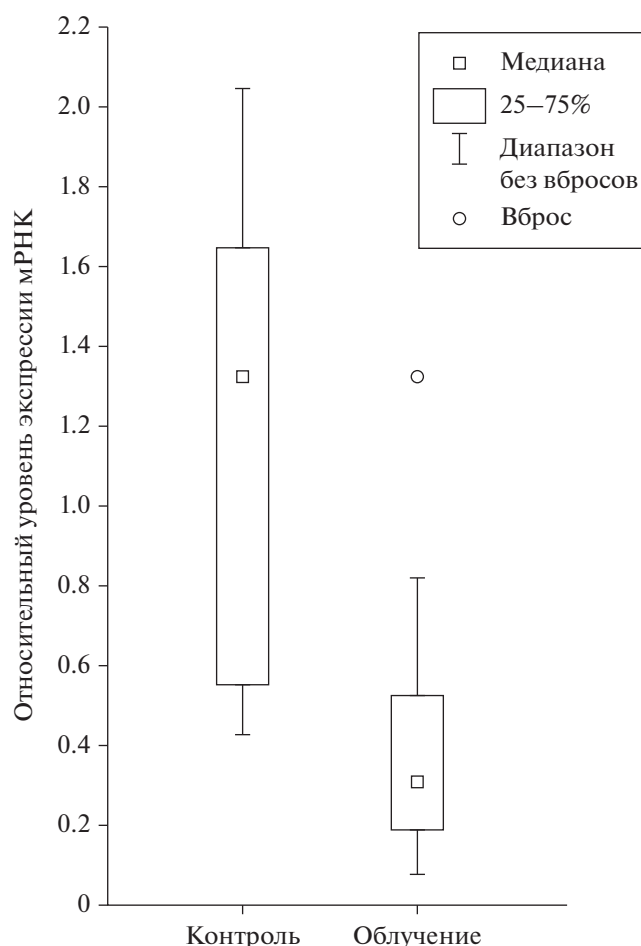


Рис. 4. Экспрессия мРНК альфа-синуклеина (без учета типологии).

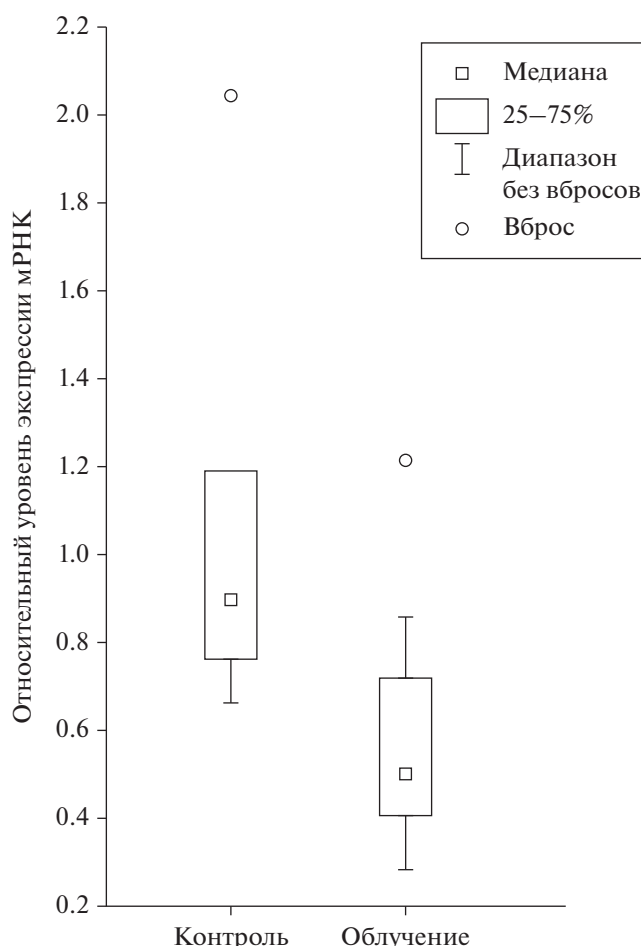


Рис. 5. Экспрессия мРНК синтаксина-1 (без учета типологии).

Однозначный механизм работы альфа-синуклеина еще не до конца исследован [10, 18]. По-видимому, альфа-синуклеин необходим для нормального развития когнитивных функций. Данный белок участвует в различных процессах, связанных с функционированием синаптической передачи. Мыши-нокауты с направленной инактивацией экспрессии альфа-синуклеина демонстрируют стойкие нарушения пространственного обучения и рабочей памяти [2]. Наблюдаемое нами снижение уровня экспрессии альфа-синуклеина и синтаксина-1 может быть результатом адаптации к повышенному оксидантному стрессу, возникающему в результате облучения [3]. Схожие результаты снижения экспрессии синуклеина наблюдаются у трансгенных мышей, полученных с целью создания модели старения [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о наличии изменений в некоторых элементах SNARE-комплекса после облучения; кроме того, есть кос-

венные свидетельства того, что изменения зависят от исходных типологических характеристик животных, однако недостаточная выборка не позволяет сделать однозначные выводы о различиях в работе SNARE-комплекса в гиппокампе у тревожных и не тревожных животных, что требует дополнительного изучения.

Тем не менее, мы можем однозначно говорить о том, что нарушения в работе ЦНС после облучения в дозах, сравнимых с дозами, получаемыми при совершении комического полета, наблюдаются на различных уровнях ее организации: поведенческом, биохимическом и молекулярно-генетическом.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках базовой темы РАН 65.2.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Программа эксперимента утверждена Комиссией по биоэтике ГНЦ РФ – ИМБП РАН, протокол № 600 от 07.10.2021 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Штемберг А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б., Матвеева М.И., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Клодт П.М., Базян А.С. // Известия РАН. Серия Биологическая. 2014. Т. 2. С. 168–75.
2. Kokhan V.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kudrin V.S., Bazyan A.S., Maltsev A.V., Shtemberg A.S. // Life Sciences in Space Research. 2019. V. 20. P. 12–19.
3. Huang Ting-Ting. // Free Radical Research. 2012. V. 46. № 8. P. 951–958.
4. Штемберг А.С., Перевезенцев А.А., Лебедева-Георгиевская К.Б., Митрофанова О.В., Кудрин В.С., Базян А.С. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 1. С. 51–62.
5. Shtemberg A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Matveeva M.I., Kudrin V.S. // Izvestia Akademii Nauk. Seriya Biologicheskaya. 2014. № 2. P. 168–175.
6. Belyaeva A.G., Kudrin V.S., Koshlan I.V., Koshlan N.A., Isakova M.D., Bogdanova Y.V., Timoshenko G.N., Krasavin E.A., Blokhina T.M., Yashkina E.I., Osipov A.N., Nosovsky A.M., Perevezentsev A.A., Shtemberg A.S. // Life Sciences in Space Research. 2021. V. 30. P. 45–54.
7. Shi L., Adams M.M., Long A., Carter C.C., Bennett C., Sonntag W.E., Nicolle M.M., Robbins M., D'Agostino R., Bruno-Bechtold J.K. // Radiat. Res. 2006 V. 166. № 6. P. 892–899.
8. Poulouse S.M., Bielinski D.F., Carrihill-Knoll K., Rabin B.M., Shukitt-Hale B. // Radiat. Res. 2011. V. 176. № 6. P. 761–769.
9. Berchtold N.C., Coleman P.D., Cribbs D.H., Rogers J., Gillen D.L., Cotman C.W. // Neurobiol. Aging. 2013. V. 34. № 6. P. 1653–1661.
10. Furong Cheng, Giorgio Vivacqua, Shun Yu // Journal of Chemical Neuroanatomy. 2011. V. 42. № 4. P. 242–248.
11. Julie Lotharius, Patrik Brundin. // Human Molecular Genetics. 2002. V. 11 № 20. P. 2395–2407.
12. Штемберг А.С., Перевезенцев А.А., Лебедева-Георгиевская К.Б., Митрофанова О.В., Кудрин В.С., Базян А.С. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 1. С. 51–62.
13. Schiavo G., Stenbeck G., Rothman J.E., Söllner T.H. // Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. 1997. V. 94. № 3. P. 997–1001.
14. Zhiping P. Pang, Ernestina Melicoff, Daniel Padgett, Yun Liu, Andrew F. Teich, Burton F. Dickey, Weichun Lin, Roberto Adachi, Thomas C. Südhof // The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience. 2006. V. 26. № 52. P. 13493–13504.
15. Pevsner J., Hsu S.C., Braun J.E., Calakos N., Ting A.E., Bennett M.K., Scheller R.H. // Neuron. 1994. V. 13. № 2. P. 353–361.
16. Robert D., Burgoyne, Jeff W. Barclay, Leo F. Ciufo, Margaret E. Graham, Mark T.W. Handley, Alan Morgan // Annals of the New York Academy of Sciences. 2009. V. 1152. P. 76–86.
17. Shyam S. Krishnakumar, Daniel T. Radoff, Daniel Kümmel, Claudio G. Giraudo, Feng Li, Lavan Khandan, Stephanie Wood Baguley, Jeff Coleman, Karin M. Reinisch, Frederic Pincet, James E. Rothman // Nature Structural & Molecular Biology. 2011. V. 18. № 8. P. 934–940.
18. Kuang Hu, Joe Carroll, Colin Rickman, Bazbek Davletov // The Journal of Biological Chemistry. 2002. V. 277. № 44. P. 41652–41656.
19. Симонов П.В. // Нейрофизиологический подход к анализу внутривидового поведения. М.: Наука, 1976. 160 с.
20. Micheli L., Creanza T.M., Ceccarelli M. et al. // Front. Cell. Dev. Biol. 2021. V. 9. № 696684.
21. Livak K.J., Schmittgen T.D. // Methods. 2001. V. 25. № 4. P. 402–408.

Estimated Gene Expression of SNARE Proteins in Hippocampus of Rats after Modelled Spaceflight

A. A. Perevezentsev^a, K. B. Lebedeva-Georgievskaya^a, O. S. Kuznetsova^a, and A. S. Shtemberg^a

^a Institute of BioMedical Problems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Our recent researches demonstrate shifts in brain activity of rats, both at behavioral and biochemical levels, induced by one of modeled impacts of interplanetary spaceflight, i.e. space radiation. Thus emerges a question, whether such shifts occur in molecular underlying processes of brain function. We have investigated the gene expression for proteins of SNARE (soluble NSF attachment receptor), responsible for fusion of transport vesicles with terminal membranes. Our result is an evidence of changes in some SNARE elements after irradiation and an indirect evidence of a link between nature of such changes and animal nervous system typology. Thus, in order, impairments of brain activity after model irradiation compared to such of an interplanetary flight are observed at every level of nervous system structure.

Keywords: ionizing radiation, cosmic rays, neurochemical, expression, SNARE, rats