

УДК 57.017, 57.043

Исследование потенциала пептидного препарата Семакс и его производного для коррекции патологических нарушений в животной модели болезни Альцгеймера

А. И. Радченко¹, Е. В. Кузубова¹, А. А. Апостол¹, В. А. Миткевич^{2*}, Л. А. Андреева³,
С. А. Лимборская³, Ю. В. Степенко¹, В. С. Шмигерева¹, А. В. Солин¹, М. В. Корокин¹,
М. В. Покровский¹, Н. Ф. Мясоедов³, А. А. Макаров²

¹ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,
Белгород, 308015 Россия

²ФГБУН Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991
Россия

³ФГБУ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, 123182
Россия

*E-mail: mitkevich@gmail.com

Поступила в редакцию 03.09.2025

Принята к печати 29.09.25

DOI: 10.32607/actanaturae.27808

РЕФЕРАТ Болезнь Альцгеймера – одно из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний настоящего времени, значимость которого все более возрастает по мере старения населения, была описана более 100 лет назад. За все время ее изучения не удалось подобрать средства, которые были терапевтически эффективными или существенно замедляли патологический процесс, будучи при этом достаточно безопасными. В этой связи значительное внимание обращено на разработку и применение пептидных препаратов, имеющих природное происхождение и не вызывающих побочных эффектов. В настоящей работе определено действие известного нейропротективного пептида Семакс и его производного на поведенческие характеристики и развитие амилоидоза у трансгенных мышей линии APP^{swe}/PS1^{dE9}/Btg, являющихся моделью болезни Альцгеймера. С использованием тестов «Открытое поле», «Распознавание нового объекта» и «Лабиринт Барнса» обнаружено улучшение когнитивных функций у мышей под действием как Семакса, так и его производного. Гистологическое исследование показало, что данные пептиды снижают число амилоидных включений в коре и гиппокампе головного мозга животных. Полученные результаты показывают перспективность использования Семакса и его производных для разработки методов лечения и коррекции болезни Альцгеймера.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА болезнь Альцгеймера, пептидный препарат, поведенческое тестирование, гистологический анализ, амилоидоз.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ БА – болезнь Альцгеймера; Aβ – бета-амилоидный пептид; APP/PS1 – трансгенные мыши линии APP^{swe}/PS1^{dE9}/Btg; AKTG(4–7) – фрагмент адренокортикотропного гормона; Гептапептид – пептид Met-Glu-Asp-Arg-Pro-Gly-Pro; WT – дикий тип, мыши линии C57Bl6/Chg.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) на сегодняшний день занимает одну из лидирующих позиций в нейродегенеративных заболеваниях пожилого и старческого возраста [1–4]. Прогрессирующая форма БА может вызываться церебральными нарушениями, интоксикацией, инфекцией, дефектами в легочной и кро-

веносной системах, которые вызывают снижение поступления кислорода в мозг, дефицитом питательных веществ и витамина B12, опухолями [5–8]. БА является наиболее распространенным типом деменции и может быть определена как медленно прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся формированием сенильных

бляшек и нейрофибриллярных клубков в результате накопления бета-амилоидного пептида (A β) и белка тау в наиболее пораженной области мозга, медиальной височной доле и неокортикальных структурах [9–11].

На сегодняшний день рынок лекарственных препаратов, применяемых для лечения болезни Альцгеймера, достаточно мал [12, 13]. В связи с этим постоянно идет поиск новых субстанций, с помощью которых можно минимизировать снижение когнитивных функций, обусловленное прогрессированием заболевания [14, 15].

Важную роль в этих исследованиях играют животные модели БА, позволяющие детально изучать действие препаратов на ключевые характеристики заболевания. Одной из таких линий являются трансгенные мыши APP^{swe}/PS1^{dE9}/B1g (APP/PS1), используемые для изучения механизмов БА и способов их коррекции [16].

Большое значение в настоящее время придается разработке лекарств на основе природных регуляторных пептидов, которые обладают мягким действием и отсутствием значительных побочных эффектов [17]. Особое внимание привлекает Семакс – одно из известных и давно используемых лекарственных средств пептидной природы Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro. Семакс является гибридной молекулой, содержащей в своем составе фрагмент адренокортикотропного гормона АКТГ(4–7) и трипептид Pro-Gly-Pro, обеспечивающий повышенную устойчивость соединения к действию пептидаз. Семакс не обладает гормональной активностью, входит в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения» (Приложение № 1 к распоряжению Правительства РФ от 12 октября 2019 г. № 2406-р). Он используется для лечения неврологических патологий и стрессовых состояний. Обладает ноотропным действием, стимулирующим процессы обучения, внимания и формирования памяти у животных и людей [18–22]. Именно это свойство привлекательно для использования в терапии БА. Предварительное испытание Семакса на ограниченном контингенте больных БА показало возможность его применения для профилактики и лечения болезни Альцгеймера [23]. Однако для широкого внедрения препарата необходимо дальнейшее, более подробное исследование его действия на различные характеристики БА [24, 25]. Кроме того, целесообразно исследовать и другие производные данного пептидного препарата, учитывающие в своей структуре особенности, способные улучшить физиологические свойства потенциального лекарственного средства. В данной ра-

боте использован пептид, являющийся производным от Семакса, в последовательности которого произведены две замены. Эти замены (His-Phe на Asp-Arg) привели к появлению внутри его структуры сочетания Glu-Asp-Arg. Ранее с использованием клеточных моделей БА была показана позитивная роль трипептида Glu-Asp-Arg в улучшении функционального состояния нейронов [26].

В представленной работе исследовали действие Семакса и его производного, Гептапептида Met-Glu-Asp-Arg-Pro-Gly-Pro, на поведение мышей линии APP/PS1 и амилоидную нагрузку в тканях головного мозга с целью определения терапевтического потенциала этих пептидов при развитии патологии Альцгеймеровского типа.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Животные

Эксперименты проведены с использованием 60 самцов мышей линии APP^{swe}/PS1^{dE9}/B1g (APP/PS1) на смешанном генетическом фоне с животными C57Bl6/Chg и 20 самцов линии C57Bl6/Chg (дикий тип, WT). Условия содержания животных соответствовали действующим санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник. Животных содержали по 10 особей в клетке при температуре 22°C, с постоянным наличием воды и корма, с 12-часовым дневным освещением (с 8 до 20 ч). Лабораторные животные со статусом «свободно от специфических патогенов» (SPF) были получены на базе НИИ Фармакологии живых систем НИУ «БелГУ» (г. Белгород). При работе соблюдались требования Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 24.06.1998 года, правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и ГОСТ Р 53434-2009) и директивы Европейского сообщества (86/609 EC). Все этапы работы проведены с соблюдением правила 3R Берча–Рассела.

Синтез пептидов и их характеристики

Пептид Met-Glu-Asp-Arg-Pro-Gly-Pro (Гептапептид) на основе адренокортикотропного гормона синтезировали методами классической пептидной химии в растворе с использованием защищенных и свободных L-аминокислот. Индивидуальность полученного соединения подтверждали высокоэффективной жидкостной хроматографией и масс-спектрометрией.

Семакс – синтетический пептидный препарат, являющийся аналогом АКТГ4-10, полностью лишенный гормональной активности, был получен как описано ранее [4, 18, 25]. Все аминокислоты L-формы.



Рис. 1. Схема эксперимента исследования действия Семакса и Гептапептида на мышах линии APP/PS1

Формирование экспериментальных групп

В ходе исследования были сформированы четыре экспериментальные группы мышей. Первая группа (группа «APP/PS1») является положительным контролем, в нее входили животные линии APP/PS1 с подтвержденными проявлениями патологии Альцгеймеровского типа. Вторая группа (группа «WT») – отрицательный контроль – животные дикого типа. В третью и четвертую группы входили животные линии APP/PS1, которым, начиная с возраста 6 месяцев, интраназально вводили Семакс (группа «Семакс») или его производное (группа «Гептапептид») в дозировке 50 мкг на 1 кг. Препараты вводили животным в течение одного месяца с временным промежутком 1 раз в 2 сут (всего 15 введений). Затем группы животных делили пополам. Первая половина животных каждой группы (по 10 особей) была направлена на гистологические исследования в возрасте 7.5 месяца. Вторая половина животных находилась в отсидке без введения препаратов в течение 1 месяца. В возрасте 8 месяцев эти животные были протестированы в поведенческих установках в течение 14 дней. Были проведены тесты: «Открытое поле», «Распознавание нового

объекта» и «Лабиринт Барнса». По окончании тестирования проводили гистологические исследования срезов мозга животных (рис. 1).

Поведенческое тестирование

Тест «Открытое поле». Данный тест позволяет оценить двигательную активность, исследовательскую реакцию и тревожность животных. Животных помещали на арену с основанием 50 × 50 см, выполненную из непрозрачного оргстекла с высотой стенок 50 см (OpenScience, Россия). Тестирование одной мыши проводили в течение 5 мин при домашнем освещении – 35–40 Лк. При проведении теста в онлайн-режиме фиксировали: общее число передвижений животного; общее время движения в секундах; общее пройденное расстояние (см); средняя скорость всех передвижений (см/с); время покоя (с); расстояние пробежек по периферии (см); общее время пробежек по периферии (с); расстояние пробежек в центре (см); время в центре (с); число пересечений центра. Для записи и обработки данных использовали программное обеспечение EthoVision (Версия 16, Нидерланды).

Тест «Распознавание нового объекта». Тест используется для оценки когнитивных функций животных, в частности памяти, путем определения предпочтения животного нового объекта знакомому. Тест разделен на 3 фазы: привыкание, обучение и адаптация, фаза тестирования. Первым днем теста «Распознавание нового объекта» является тест «Открытое поле». На второй день теста животное также помещали на арену на 5 мин, при этом в определенные зоны ставили два объекта (игрушки) одинакового цвета. На третий день животное также помещали на арену на 5 мин, при этом один из объектов заменяли новым другого цвета. При помощи программного обеспечения EthoVision фиксировали следующие показатели: двигательная активность, количество подходов к новому и старому объекту и время, проведенное возле них. После анализа данных рассчитывали индекс предпочтения нового объекта по формуле:

$$PI = \frac{b}{b + a} \cdot 100\%,$$

где a – количество подходов к старому объекту;
 b – количество подходов к новому объекту.

Тест «Лабиринт Барнса». Данный тест использовали для исследования пространственного обучения и памяти животного. Цель теста «Лабиринт Барнса» – исследование мышью пространства, запоминание местоположения выхода с использованием конфигурации дистальных визуальных сигналов, расположенных вокруг области тестирования. Установка представляет собой арену диаметром 122 см, которая содержит 40 отверстий диаметром 5 см, одно из которых является выходом (убежище). Дистальные визуальные сигналы – это четыре черно-белые картинки с различными фигурами и узорами, которые расположены в разных частях света: север, юг, запад, восток.

Тест «Лабиринт Барнса» проводили в течение 5 дней, четыре из которых тренировочные и обучающие, пятый день является тестовым. В течение четырех дней животных помещали на арену на 3 мин. По прошествии этого времени, если грызун сам находил убежище, то норку вместе с мышью вытаскивали и аккуратно переносили в домашнюю клетку, если же животное не могло самостоятельно найти убежище, тогда экспериментатор помогал ему в этом, осторожно подталкивая к норке. У каждого грызуна в течение одного обучающего дня было четыре попытки с промежутком 15 мин. На пятый день норку удаляли и отверстие закрывали перегородкой. Животное помещали на арену на 5 мин. При помощи программного обеспечения EthoVision

фиксировали пройденное расстояние, скорость, время нахождения выхода и время, проведенное в зоне убежища.

Гистология

Животных подвергали эвтаназии цервикальной дислокацией и препарировали ткани для анализа. Диссектировали мозг и фиксировали в растворе Карнуа (6 частей 96% этилового спирта, 3 части хлороформа, 1 часть ледяной уксусной кислоты) в течение ночи. Дегидратировали ткань в последовательной серии растворов этанола с увеличивающейся концентрацией: 75% 1 ч, 96% (I) 5 мин, 96% (II) 45 мин, 100% (I) 5 мин, 100% (II). Далее инкубировали в течение 30 мин в смеси 100% этиловый спирт–хлороформ (1:1), 1 ч хлороформ (I), оставляли на ночь в хлороформе (II), после чего ткани пропитывали парафином (3 смены по 1 ч) при 600°C. Парафиновые блоки подготавливали на станции для заливки Leica EG1160 (Leica Biosystems). Парафиновые срезы толщиной 8 мкм монтировали на предметные стекла с полилизинным покрытием.

Из зоны мозга толщиной 400 мкм формировали пять стекол, содержащих 10 срезов мозга, на каждое предметное стекло помещали каждый пятый срез мозга. Далее срезы депарафинизировали в течение 20 мин в ксилоле, регидратировали последовательной инкубацией в растворах этанола: 10 мин в 100%, 5 мин – 95%, 5 мин – 50%, далее 3 раза по 5 мин промывали в деионизованной воде. Срезы окрашивали раствором красителя Конго красный (0.5% Конго красного в 50% этиловом спирте) в течение 5 мин и дифференцировали в растворе 0.2% КОН в 80% этиловом спирте в течение 1 мин, промывали 3 раза по 5 мин в деионизованной воде и заключали в среду на водной основе Immu-Mount™ (Thermo Scientific).

После проведения фиксации мозга, дегидратации, инкубации и пропитывании парафином производили нарезку ткани и ее окрашивание в Конго красном. В ходе исследования подсчитывали общее число бляшек в каждой группе на всех срезах мозга в зоне коры и гиппокампа и рассчитывали среднее арифметическое значение. Подсчет амилоидных бляшек проводили в программе QuPath v0.5.1.

Статистическая обработка данных

Для статистической обработки данных использованы методы описательной статистики. Все поведенческое тестирование имело параметрическое распределение по Н-критерию Крускала–Уоллиса. Для межгруппового сравнения в тесте «Лабиринт Барнса» применяли дисперсионный анализ (2 way-

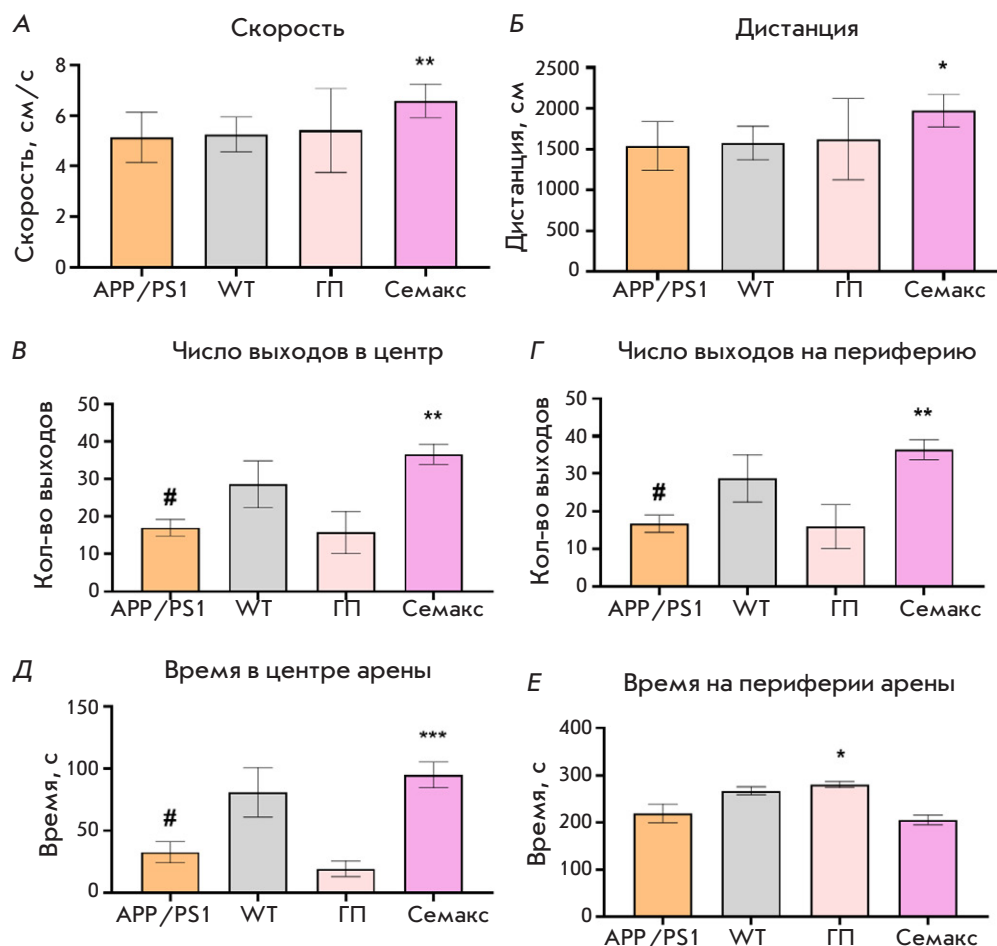


Рис. 2. Результаты тестирования «Открытое поле». Скорость передвижения (А), пройденная дистанция (Б), число выходов в центр арены (В), число выходов на периферию арены (Г), время, проведенное в центре арены (Д), время, проведенное на периферии арены (Е). Здесь и далее: APP/PS1 (APP^{swe}/PS1^{dE9}/Blg), WT (животные дикого типа), ГП (животные APP/PS1, получавшие Гептапептид), Семакс (животные APP/PS1, получавшие Семакс); * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ (по отношению групп с препаратами к мышам линии APP/PS1), # – $p > 0.05$ (по отношению мышей линии APP/PS1 к животным дикого типа) (Н-критерий Крускала–Уоллиса). Количество животных в каждой группе, $n = 10$

ANOVA) с использованием обобщенных линейных моделей (GLM). Межгрупповые сравнения изменений переменных результатов в гистологии проводили по критерию Колмогорова–Смирнова. Также для контроля частоты ошибок первого рода при множественной проверке гипотез использовали поправку Сидака, которая корректирует критерий значимости в зависимости от количества запланированных сравнений. Различия определяли на уровне значимости 0.05. Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние Семакса и Гептапептида на поведение животных

На первом этапе исследования было оценено поведение мышей в тесте «Открытое поле» (рис. 2). Сравнительный анализ поведения животных из групп WT и APP/PS1 показал, что развитие патологии у мышей APP/PS1 приводит к статистически значимому снижению числа их выходов в центр

арены, выходов на периферию арены и времени, проведенному в центре арены. Все указанные нарушения в поведении APP/PS1 животных были предотвращены введением препарата Семакс. Кроме того, введение Семакса привело к тому, что животные стали в целом более активными. Увеличились скорость и расстояние, пройденное животными. Введение Гептапептида привело к статистически значимому, в сравнении с группой животных APP/PS1, увеличению времени, проведенному на периферии арены. При этом Гептапептид не влиял статистически значимо на скорость, дистанцию, число выходов на периферию и в центр арены и время, проведенное в центре.

Далее был проведен тест «Распознавание нового объекта» (рис. 3). На третий день теста животные из группы APP/PS1 проходили большее расстояние и имели большую скорость передвижения, чем животные группы WT. В то же время интерес к исследованию нового объекта у мышей APP/PS1 был достоверно ниже, чем у мышей дикого типа. Индекс предпочтения между этими двумя группами не различался.

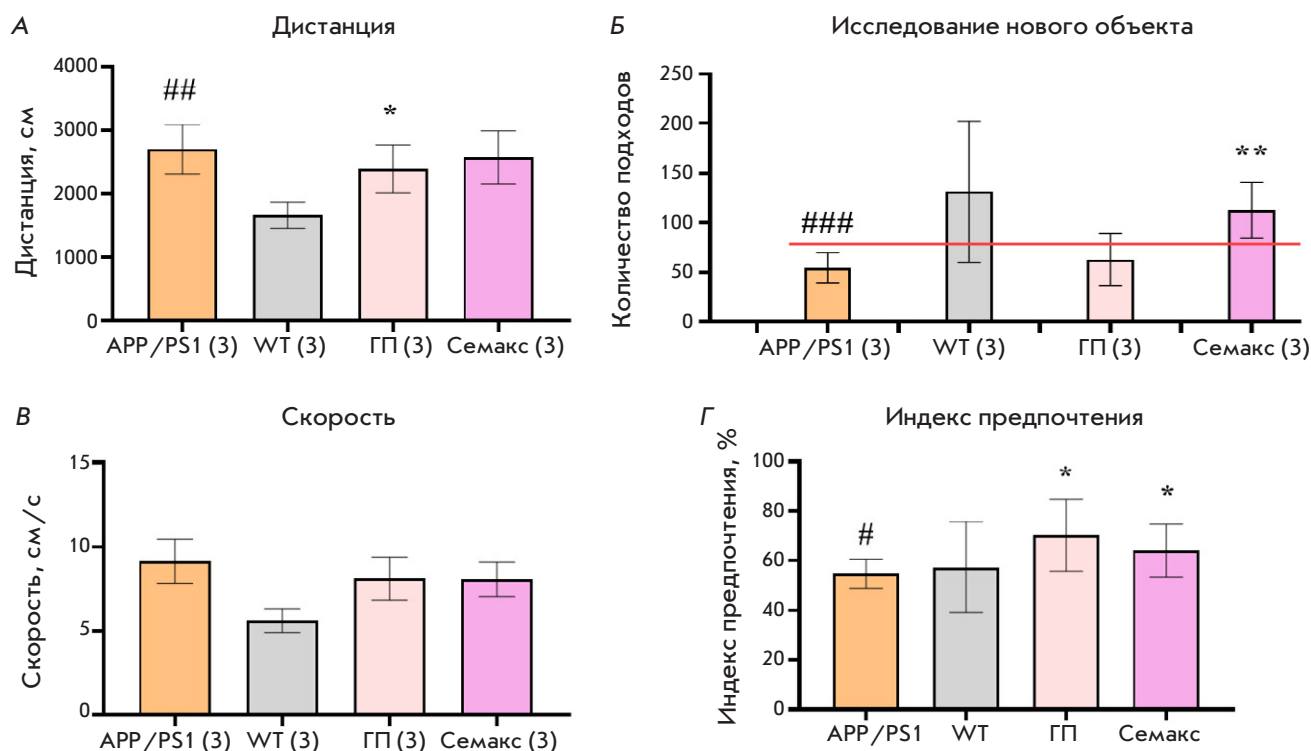


Рис. 3. Результаты тестирования «Распознавание нового объекта» на третий день. Пройденная дистанция (А), количество подходов к новой игрушке на третий день (Б), скорость передвижения (В), индекс предпочтения (Г); * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (по отношению групп с препаратами к мышам линии APP/PS1), # – $p > 0.05$, ## – $p < 0.01$, ### – $p < 0.001$ (по отношению мышей линии APP/PS1 к животным дикого типа) (Н-критерий Крускала–Уоллиса). $n = 10$

Введение Гептапептида не повлияло на скорость животных, проходимую ими дистанцию и исследование нового объекта. Однако индекс предпочтения у этих животных вырос почти на 30% по сравнению с мышами APP/PS1. Введение Семакса статистически значимо повышало у животных интерес к новому объекту и индекс предпочтения нового объекта.

Следующим был проведен тест «Лабиринт Барнса». На первом этапе тестирования животные обучались в течение 4 дней (рис. 4). Скорость и пройденное расстояние у всех исследуемых групп статистически не различались за исключением животных, принимавших Семакс. Введение данного препарата статистически значимо повысило скорость и понизило пройденное животными расстояние. На второй и третий день теста у этих животных отмечено достоверное снижение латентного времени нахождения убежища, однако на четвертый день теста они показали ухудшение результатов.

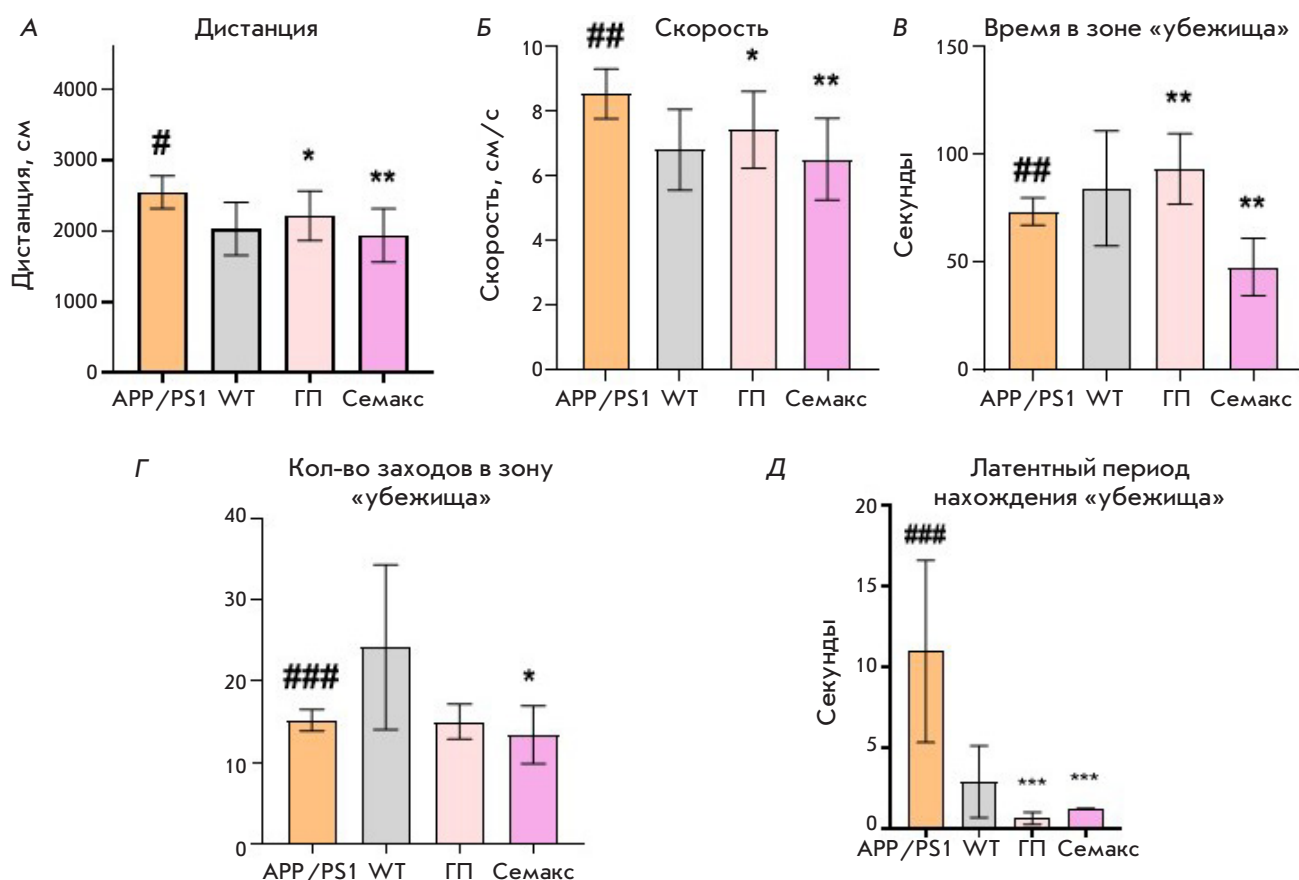
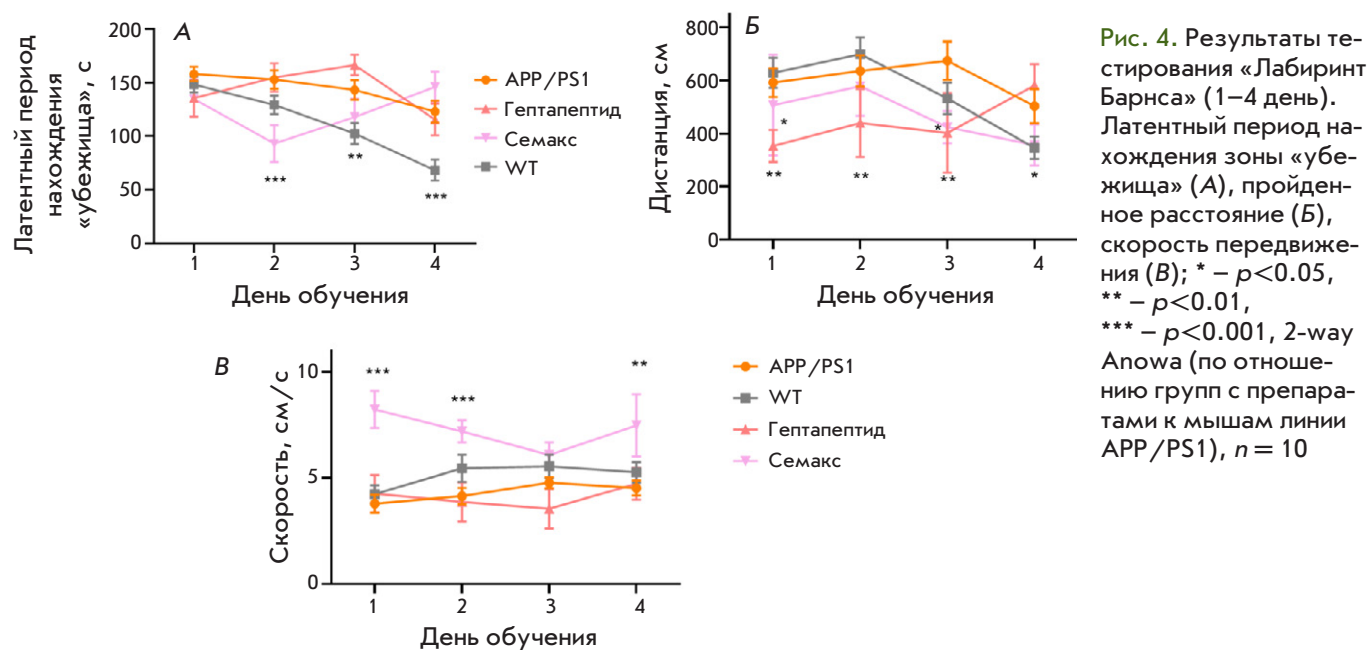
На пятый день теста «Лабиринт Барнса» проводили тестовый экспериментальный заход животных на арену, результаты которого представлены на рис. 5. Животные линии APP/PS1 проходили большее расстояние, имели большую скорость пере-

движения, а также медленнее находили зону «убежища», чем животные дикого типа.

Введение Гептапептида привело к статистически значимому, в сравнении с группой животных линии APP/PS1, уменьшению пройденной дистанции и скорости, повышению времени, проведенного в зоне «убежища», а также к снижению латентного периода нахождения «убежища». При этом Гептапептид статистически значимо не влиял на количество заходов в зону «убежища». Препарат Семакс статистически значимо снижал скорость и расстояние, время в зоне «убежища», количество заходов в зону «убежища», а также латентный период нахождения зоны «убежища». Таким образом, введение как Гептапептида, так и Семакса привело к выраженной коррекции поведенческих параметров животных линии APP/PS1 до уровня, сопоставимого с показателями у животных дикого типа.

Результаты гистологических исследований

Гистологическое исследование проводилось с целью оценить влияние введения препаратов Семакс и Гептапептид на развитие амилоидоза у мышей APP/PS1. Эксперименты были проведены в двух



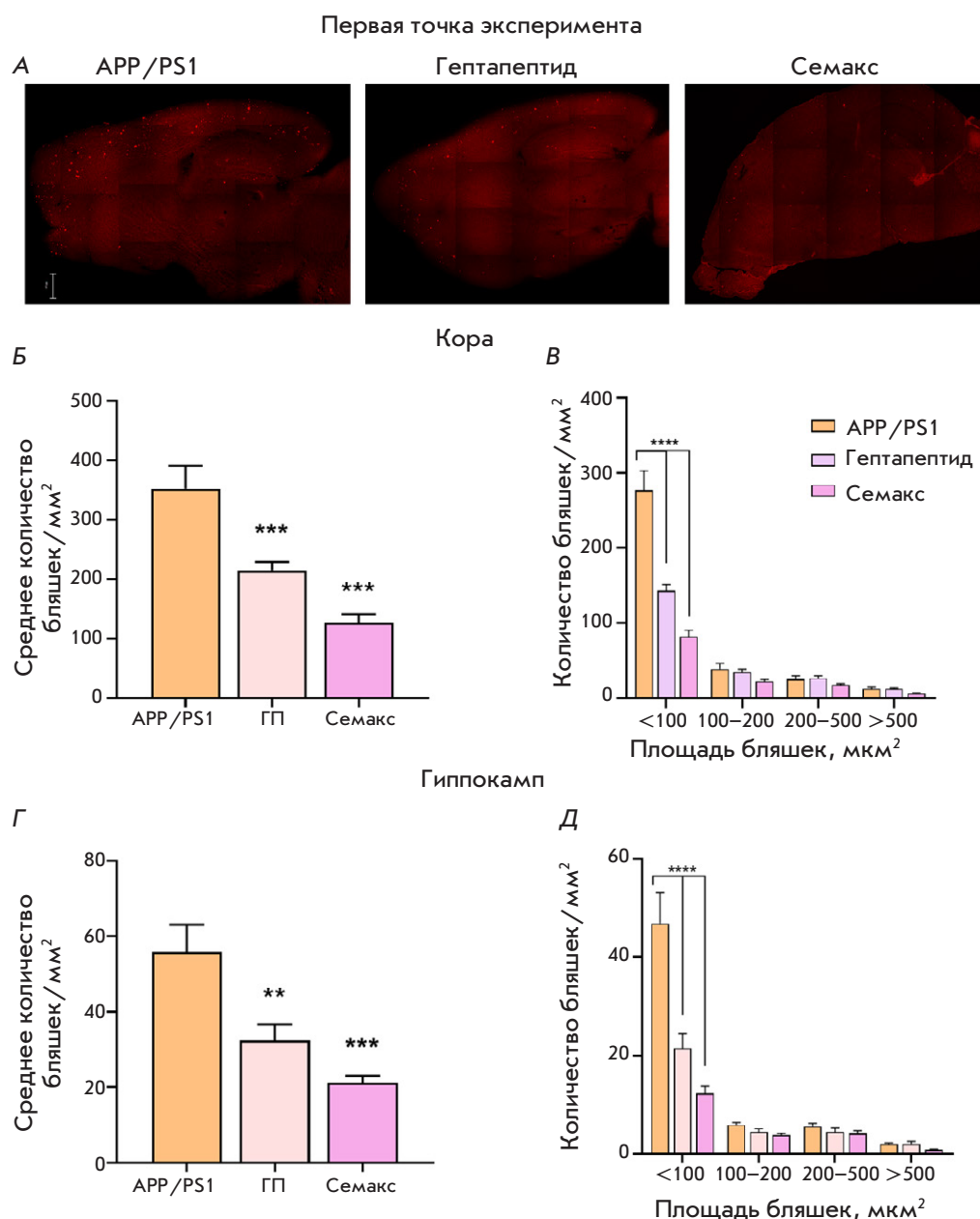


Рис. 6. Результаты гистологического исследования мышей APP/PS1 в возрасте 7.5 месяца (А). Репрезентативные микрофотографии срезов головного мозга контрольных животных и мышей, которым вводили Гептапептид и Семакс. Амилоидные бляшки окрашены в ярко-красный цвет. Масштабная линейка: 500 мкм. Среднее число амилоидных бляшек (Б, Г) и распределение бляшек по размерам (В, Д) в мозге мышей линии APP/PS1 в коре (Б, В) и гиппокампе (Г, Д) на первой точке эксперимента. ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ Критерий Колмогорова–Смирнова, **** – $p < 0.0001$, поправка Сидака на множественные сравнения. $n = 10$

временных точках: установлен уровень амилоидных бляшек в мозге животных через 2 недели после введения препаратов (возраст 7.5 месяца) и через полтора месяца (возраст 8.5 месяца).

У животных 7.5 месяца терапия препаратами Гептапептид и Семакс привела к снижению количества амилоидных бляшек в зоне коры в 1.6 и 2.8 раза соответственно, по сравнению с животными, не получающими препараты (рис. 6). Анализ распределения амилоидных бляшек по размерам показал, что основная их часть представлена включениями размером менее 100 мкм² – это включения, которые образовались в недавнем времени и с возрастом они будут только увеличиваться.

Гептапептид и Семакс значительно снизили представленность именно этой популяции бляшек.

Анализ амилоидных бляшек в зоне гиппокампа показал такую же тенденцию, как в коре (рис. 6). Количество амилоидных включений у мышей в группе «Гептапептид» было в 1.7 раза меньше, чем у группы «APP/PS1», в группе «Семакс» в 2.6 раза меньше. В наибольшей степени снижение количества бляшек под действием препаратов затронуло популяцию амилоидных включений площадью до 100 мкм².

У животных APP/PS1 в возрасте 8.5 месяца значительно возросло количество амилоидных бляшек как в коре, так и в гиппокампе (рис. 7). При этом защитное действие Гептапептида и Семакса сохрани-

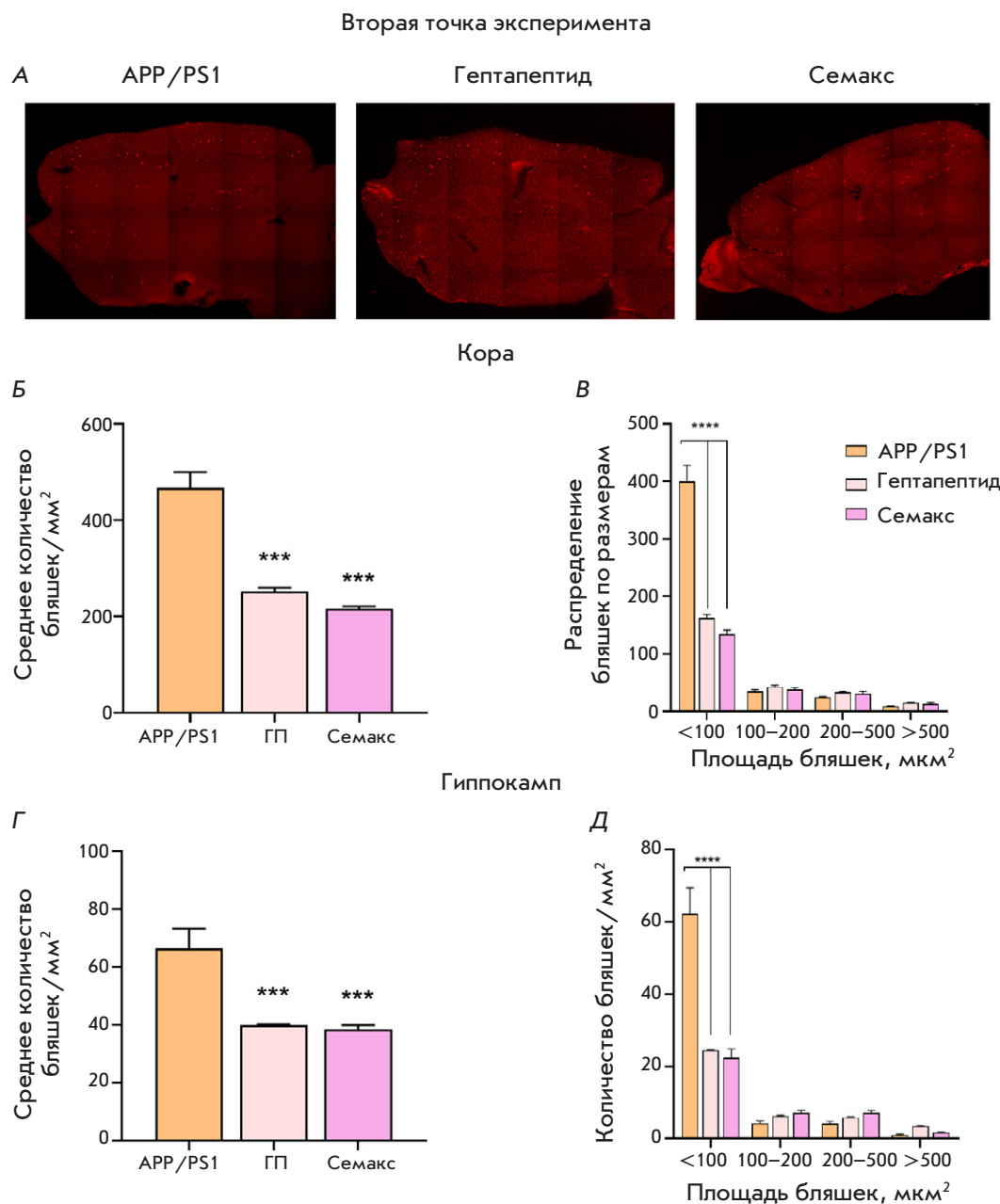


Рис. 7. Результаты гистологического исследования мышей APP/PS1 в возрасте 8.5 месяца. Репрезентативные микрофотографии срезов головного мозга контрольных животных и мышей, которым вводили Гептапептид и Семакс (А). Амилоидные бляшки окрашены в ярко-красный цвет. Среднее число амилоидных бляшек (Б, Г) и распределение бляшек по размерам (В, Д) в мозге мышей линии APP/PS1 в коре (Б, В) и гиппокампе (Г, Д) на первой точке эксперимента. *** – $p < 0.001$ Критерий Колмогорова–Смирнова, **** – $p < 0.0001$, поправка Сидака на множественные сравнения). $n = 10$

лось практически на том же уровне, как и у животных в возрасте 7.5 месяца. Количество амилоидных включений в коре мышей в группе «Гептапептид» было в 1.8 раза меньше, чем в группе «APP/PS1», в группе «Семакс» в 2.2 раза меньше. У мышей группы «Гептапептид» бляшек в гиппокампе было в 1.6 раза меньше, чем в группе «APP/PS1», в группе «Семакс» – в 1.7 раза меньше. Анализ распределения амилоидных бляшек выявил наибольшее снижение числа бляшек размером до 100 мкм² у получавших препараты мышей в возрасте как 7.5, так и 8.5 месяца.

ОБСУЖДЕНИЕ

Пептид Семакс, обладающий нейропротекторными и ноотропными свойствами, является стимулятором памяти пролонгированного действия [17]. Предложенные нами модификации Семакса, в результате которых был получен Гептапептид, предположительно могли усилить влияние пептида на основные патологические признаки БА.

Тестирование поведения животных показало, что у мышей APP/PS1 по сравнению с мышами дикого типа значительно ухудшены поведенческие и когнитивные характеристики. После курсового

введения препаратов пептидов многие из них были полностью или частично восстановлены. В тестах «Отрытое поле» и «Распознавание нового объекта» значимый позитивный эффект продемонстрировал Семакс. В случае теста «Лабиринта Барнса» Гептапептид улучшал некоторые поведенческие параметры животных линии APP/PS1 до уровня показателей у животных дикого типа. Семакс в данном тесте оказывал положительное действие на еще большее число параметров.

Таким образом, через месяц после курсового введения пептидов наблюдалось улучшение ряда поведенческих и когнитивных характеристик животных с патологией Альцгеймеровского типа.

Наиболее яркие результаты были получены при изучении гистологических препаратов мозга животных. Через 2 недели после месячного курсового введения пептидных препаратов амилоидные бляшки определялись в коре головного мозга и в гиппокампе. В этот период у животных группы APP/PS1 среднее число амилоидных бляшек превышало 350 на мм², тогда как в группе «Гептапептид» это число было снижено в 1.6 раза, а в группе «Семакс» еще больше – в 2.8 раза. При этом пептиды в основном снижали количество бляшек малого размера (меньше 100 мкм²), что свидетельствует о том, что они препятствуют образованию новых бляшек. В области гиппокампа среднее число бляшек было ожидаемо меньшим – более 50 на мм². У мышей группы APP/PS1 также наблюдалось снижение числа бляшек под действием пептидов: в 1.7 раза меньшее в группе «Гептапептид» и в 2.6 раза меньшее в группе «Семакс». Таким образом, на данном этапе курсовое введение того или другого пептида значительно снижает количество образующихся амилоидных бляшек в обоих отделах мозга, причем наиболее эффективное действие оказывает Семакс.

Следующий этап гистологического исследования был проведен на образцах мозга животных через 1.5 месяца после введения препаратов. За это время в коре головного мозга животных группы APP/PS1 среднее число бляшек (на мм²) превысило 400. В группах «Гептапептид» и «Семакс» этот показа-

тель хотя и немного увеличился, но остался значительно сниженным (в 1.8 и 2.2 раза соответственно). Сходные результаты получены и в образцах гиппокампа. Таким образом, оба пептида вызвали снижение амилоидных включений в тканях, которое сохраняется в течение 1.5 месяца после их введения. Действие этих пептидов может быть основано на важном свойстве, присущем многим пептидам – на способности аллостерически взаимодействовать с различными рецепторами, меняя их воздействие на контролируемые сигнальные пути [27].

Предложенная ранее концепция «амилоидных матриц» основана на долговременном взаимодействии измененных форм бета-амилоида с белками-партнерами, включая альфа-4-никотиновый ацетилхолиновый рецептор. Образованные комплексы могут служить затравками патологической агрегации интактных молекул бета-амилоида, генерируя формирование амилоидных бляшек [28, 29]. Таким образом, можно предположить, что оба изучаемых пептида связываются аллостерически с рецепторами, включая ацетилхолиновые, и тем самым меняют их конфигурацию, приводя к невозможности или резкому снижению их связывания с измененной формой бета-амилоида. Тогда именно этот путь образования амилоидных бляшек может тормозиться под действием исследованных нами пептидов, причем это торможение сохраняется более месяца после их курсового введения.

Полученные данные показывают, что интраназальное введение препаратов Семакс и Гептапептид приводит к улучшению когнитивных функций у мышей с моделью болезни Альцгеймера. При этом и Семакс и Гептапептид значительно снижают амилоидную нагрузку в мозге животных. Эти результаты демонстрируют перспективность использования Семакса и его производных для разработки методов лечения и коррекции болезни Альцгеймера. ●

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 19-74-30007, поведенческие тесты, гистология) и Госзадания НИЦ «Курчатовский институт» (дизайн и синтез пептидов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, et al. Alzheimer's Disease. *Lancet*. 2016;388:505-517. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01124-1
- Kuhla A, Ruhlmann C, Lindner T, et al. APP^{swe}/PS1^{dE9} mice with cortical amyloid pathology show a reduced NAA/Cr ratio without apparent brain atrophy: A MRS and MRI study. *NeuroImage Clinical*. 2017;15:581-586. doi:10.1016/j.nicl.2017.06.009
- Konttinen H, Cabral-da-Silva MEC, Ohtonen S, et al. PSEN1^{ΔE9}, APP^{swe}, and APOE4 Confer Disparate Phenotypes in Human iPSC-Derived Microglia. *Stem Cell Reports*. 2019;13(4):669-683. doi: 10.1016/j.stemcr.2019.08.004
- Koroleva SV, Myasoedov NF. Semax – Universal Drug for Therapy and Research. *Biology Bulletin*. 2018;45(6):589-600. doi: 10.1134/S000233291806005X. EDN: BDOQJJ
- Cummings J, Lee G, Ritter A, et al. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2019. *Transl Res Clin Interv*.

- 2019;5:272-293. doi: 10.1016/j.trci.2019.05.008
6. Bairamova SP, Petelin DS, Akhupkin RV, Kudryashov NV, Sorokina OY, Semin SA, Panfilova V, Volev BA. The endogenous neurosteroid system and its role in the pathogenesis and therapy of mental disorders. *Research Results in Pharmacology*. 2023;9(1):61-69. doi.org/10.18413/rrpharmacology.9.10015
7. Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent Advancements in Pathogenesis, Diagnostics and Treatment of Alzheimer's Disease. *Curr Neuropsychopharmacol*. 2020;18(11):1106-1125. doi:10.2174/1570159X18666200528142429
8. Stepenko YV, Shmigerova VS, Kostina DA, Shcheblykina OV, Zhernakova NI, Solin AV, Koroleva NV, Markovskaya VA, Dudnikova OV, Bolgov AA. Study of the neuroprotective properties of the heteroreceptor EPOR/CD131 agonist of peptide structure in tau-proteinopathy modeling. *Research Results in Pharmacology*. 2024;10(2):41-47. doi: 10.18413/rrpharmacology.10.492
9. Platt B, Drever B, Koss D, et al. Abnormal cognition, sleep, EEG and brain metabolism in a novel knock-in Alzheimer mouse, PLB1. *PLoS*. 2011;6:e27068. doi: 10.1371/journal.pone.0027068
10. Lysikova EA, Kukharsky MS, Chaprov KD, et al. Behavioural impairments in mice of a novel FUS transgenic line recapitulate features of frontotemporal lobar degeneration. *Genes Brain and Behavior*. 2019;18:e12607. doi: 10.1111/gbb.12607
11. Forest KH, Alfulaij N, Arora K, Taketa R, Sherrin T, Todorovic C, Lawrence JLM, Yoshikawa GT, Ng HL, Hruby VJ, Nichols RA. Protection against β -amyloid neurotoxicity by a non-toxic endogenous N-terminal β -amyloid fragment and its active hexapeptide core sequence. *J Neurochem*. 2018;144(2):201-217. doi: 10.1111/jnc.14257
12. Kozin SA, Barykin EP, Mitkevich VA, et al. Anti-amyloid therapy of Alzheimer's disease: Current state and prospects. *Biochem. Mosc.* 2018;83:1057-1067. doi: 10.1134/S0006297918090079
13. Istrate AN, Tsvetkov PO, Mantsyzov AB, et al. NMR solution structure of rat α 1(1-16): toward understanding the mechanism of rats' resistance to Alzheimer's disease. *Biophys J*. 2012;102(1):136-143. doi: 10.1016/j.bpj.2011.11.4006
14. Cummings J, Fox N. Defining Disease Modifying Therapy for Alzheimer's Disease. *J Prev Alzheimer's Dis*. 2017;4(2):109-115. doi: 10.14283/jpad.2017.12
15. Sengupta A, Nilson N, Kaye R. The Role of Amyloid- β Oligomers in Toxicity, Propagation, and Immunotherapy. *EBioMedicine*. 2016;6:42-49. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.03.035
16. Lysikova EA, Kuzubova EV, Radchenko AI, Patrakhov EA, Chaprov KD, Korokin MV, Deykin AV, Gudyrev OS, Pokrovskii MV. APPswe/PS1dE9/Blg Transgenic Mouse Line for Modeling Cerebral Amyloid Angiopathy in Alzheimer's Disease. *Mol Biol (Mosk.)*. 2023;57(1):85-94. doi: 10.31857/S0026898423010081. EDN: AXGEVN
17. Ashmarin IP, Nezavibatko VN, Myasoedov NF, Kamensky AA, Grivennikov IA, Ponomareva-Stepnaya MA, Andreeva LA, Kaplan AY, Koshelev VB, Ryasina TV. Nootropic analogue of adrenocorticotropin 4-10 Semax (The experience of desing and investigation over 15 years). *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 1997;47(2):420-430. EDN: MOXKPP
18. Мясоедов НФ, Гривенников ИА. Нейропептиды и их аналоги в регуляции функций нервной системы млекопитающих, включая человека. От синтеза и изучения механизмов их действия до создания лекарственных средств нового поколения. *Проблемы и перспективы молекулярной генетики*. М.: Наука. 2004;2:195-236.
19. Potaman VN, Antonova LV, Dubynin VA, Zaitzev DA, Kamensky AA, Myasoedov NF, Nezavibatko VN. Entry of the synthetic ACTH(4-10) analogue into the rat brain following intravenous injection. *Neurosci Lett*. 1991;127:133-136. doi: 10.1016/0304-3940(91)90912-d
20. Пономарева-Степная МА, Бахареv ВД, Незавибатько ВН, Андреева ЛА, Алфеева ЛЮ, Потамаv ВН. Сравнительные исследования аналогов АКТП(4-10) стимуляторов обучения и памяти. *Хим.-фарм. ж.* 1986;20(6):667-670.
21. Levitskaya NG, Glazova NYu, Sebestsova EA, Andreeva LA, Myasoedov NF, Manchenko DM, Vilensky DA, Kamensky AA. Investigation of the Spectrum of Physiological Activities of the Heptapeptide Semax, an ACTH 4-10 Analogue. *Neurochemical J*. 2008;2(1-2):95-101. doi:10.1134/S1819712408010182. EDN: LLKPDT
22. Levitskaya NG, Sebestsova EA, Glazova NYu, Voskresenskaya OG, Andreeva LA, Alfeeva LYu, Kamenskii AA, Myasoedov NF. Study on the neurotropic activity of the products of Semax enzymatic degradation. *Dokl. Biol. Sci*. 2000;372(1-6):243-246. EDN: CDIQZA
23. Patent RUS № 2384343/20.03.2010. Byul. № 8. Mjasoedov NF, Gavrilova SI, Kalyn JaB, Kolykhalov IV, Mikhajlova NM, Selezneva ND, Sokolova ON, Tiganov AS, Andreeva LA. *Agent and method for prevention and treatment of the patients with Alzheimer's disease*. EDN: UQIOJW
24. Ilina AR, Popovich IG, Ryzhak GA, Khavinson VKh. Prospects for use of short peptides in pharmacotherapeutic correction of Alzheimer's disease. *Adv Geront*. 2024;37(1-2):10-20. doi: 10.34922/AE.2024.37.1-2.001. EDN: SPXNED
25. Пономарева-Степная МА, Незавибатько ВН, Антонова ЛВ, Андреева ЛА, Алфеева ЛЮ, Потамаv ВН, Каменский АА, Ашмарин ИП. Аналог АКТП(4-10) стимулятор обучения пролонгированного действия. *Хим.- фарм. ж.* 1984;18(7):790-795.
26. Ryzhak GA, Ilina AR. Prospects of using peptide drugs for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Problems of Geroscience*. 2024;4(8):223-226. doi: 10.37586/2949-4745-4-2024-223-226. EDN: RCJZKF
27. Vyunova TV, Andreeva LA, Shevchenko KV, Myasoedov NF. An integrated approach to study the molecular aspects of regulatory peptides biological mechanism. *J Labelled Comp Radiopharm*. 2019;62(12):812-822. doi.org/10.1002/jlcr.3785
28. Kozin SA, Makarov AA. The convergence of Alzheimer's disease pathogenesis concepts. *Mol Biol. (Moscow)*. 2019;53(6):1020-1028. doi: 10.1134/S0026898419060107. EDN: JAYLXH
29. Barykin EP, Garifulina AI, Krutykova EV, Spirova EN, Anashkina AA, Adzhubei AA, Shelukhina IV, Kasheverov IE, Mitkevich VA, Kozin SA, Hollmann M, Tsetlin VI, Makarov AA. Isomerization of Asp7 in Beta-Amyloid Enhances Inhibition of the α 7 Nicotinic Receptor and Promotes Neurotoxicity. *Cells*. 2019;8(8):771-787. doi: 10.3390/cells8080771