

Изучение возможности коррекции поведенческих нарушений у крыс со стереотаксической моделью болезни Альцгеймера

Сёмина И. И.¹, Малиновская Н. А.², Никитин Д. О.¹, Никитина А. В.¹, Семёнова А. А.²

¹ — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация

² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красноярск, Российская Федерация

Аннотация. Актуальность. Болезнь Альцгеймера (БА) — нейродегенеративное заболевание, лекарственная терапия которого способна лишь замедлить прогрессирование болезни, что обусловлено многообразием имеющихся патогенетических процессов. Возможным эффективным подходом к коррекции симптомов может стать применение соединений с комплексным механизмом действия — фосфорилацетогидразидов, способных одновременно воздействовать на разные звенья патологического процесса, наиболее эффективным представителем которых является соединение 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенил фосфорилацетогидразид (КАПАХ). Цель. Изучить возможность коррекции когнитивных и поведенческих нарушений у крыс со стереотаксической моделью БА с использованием соединения КАПАХ, воздействующего на разные звенья патологического процесса. Методы. В работе были использованы 24 самки крыс линии Wistar. БА моделировали у крыс путём стереотаксического билатерального введения в область гиппокампа β -амилоида в растворе фосфатного буфера, затем на 11-й день внутрибрюшинно вводили КАПАХ (10 мг/кг) в течение 10 дней, после чего проводили тестирование на установках «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле» и «Водный лабиринт Морриса». Статистическую обработку осуществляли в программе GraphPad Prism 8.0.1 с применением однофакторного анализа ANOVA. Результаты. Многократное введение КАПАХ способствовало снижению уровня тревожности в методе «Приподнятый крестообразный лабиринт», увеличивая время пребывания в открытых «рукавах» в 4,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с крысами без лечения. В тестах «Водный лабиринт Морриса» и «Открытое поле» наблюдалась нормализация процессов памяти и двигательной активности, соответственно, время поиска платформы и количество пересечённых линий не отличались от показателей контрольных животных. Вывод. КАПАХ уменьшает состояние тревожности и процессы памяти у крыс со стереотаксической моделью болезни Альцгеймера, вызванной введением β -амилоида в область гиппокампа.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; бета-амилоид; Открытое поле; Приподнятый крестообразный лабиринт; Водный лабиринт Морриса

Для цитирования:

Сёмина И. И., Малиновская Н. А., Никитин Д. О., Никитина А. В., Семёнова А. А. Изучение возможности коррекции поведенческих нарушений у крыс со стереотаксической моделью болезни Альцгеймера. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(1):24–32. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-1-24-32>

Поступила: 20 февраля 2023 г. **Принята:** 26 февраля 2023 г. **Опубликована:** 24 марта 2023 г.

Study of the possibility of correcting behavioral disorders in rats with a stereotaxic model of Alzheimer's disease

Semina II¹, Malinovskaya NA², Nikitin DO¹, Nikitina AV¹, Semenova AA²

¹ — Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kazan Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation

² — Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. Relevance. Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease, the drug therapy of which can only slow the progression of the disease, due to the variety of existing pathogenetic processes. A possible effective approach to the correction of symptoms can be the use of compounds with a complex mechanism of action — phosphorylaceto hydrazides, capable of simultaneously acting on different parts of the pathological process, the most effective representative of which is the compound 2-chloroethoxy-para-N-dimethylaminophenyl phosphorylaceto hydrazide (CAPAH). Target. To study the possibility of correcting cognitive and behavioral disorders in rats with a stereotaxic model of AD using the CAPAH compound, which affects different parts of the pathological process. Methods. 24 female Wistar rats were used in the work. AD was modeled in rats by stereotaxic bilateral injection of β -amyloid into the hippocampal region in a phosphate buffer solution, then on day 11, CAPAH (10 mg/kg) was administered intraperitoneally for 10 days, after which tests were performed using the «Elevated Plus Maze», «Open Field» and «Morris Water Maze». Statistical processing was carried out in the GraphPad Prism 8.0.1 program using one-way ANOVA analysis. Results. Multiple administration of CAPAH contributed to a decrease in the level of anxiety in the «Elevated Plus Maze» method, increasing the time spent in open arms by 4.6 times ($p < 0.05$) compared to rats without treatment. In the «Morris Water Maze» and «Open Field» tests, normalization of memory and motor activity processes was observed, respectively, the platform search time and the number of crossed lines did not differ from those of control animals. Conclusion. CAPAH reduces anxiety and memory processes in rats with a stereotaxic model of Alzheimer's disease caused by the introduction of β -amyloid into the hippocampus.

Keywords: Alzheimer's disease; beta-amyloid; Open field; Elevated plus maze; Morris water maze

For citations:

Semina II, Malinovskaya NA, Nikitin DO, Nikitina AV, Semenova AA. Study of the possibility of correcting behavioral disorders in rats with a stereotaxic model of Alzheimer's disease. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(1):24–32. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-1-24-32>

Received: February 20, 2023. **Accepted:** February 26, 2023. **Published:** March 24, 2023.

Введение / Introduction

Как известно, болезнь Альцгеймера (БА) — хроническое нейродегенеративное заболевание, характеризующееся нарушениями процессов памяти и когнитивных функций с последующим развитием деменции, увеличением общего уровня тревожности и неадекватным социальным поведением [1–3]. В настоящее время, наряду с онкологическими и сердечно-сосудистыми заболеваниями, БА является одной из самых распространённых патологий в мире [3, 4]. Из-за увеличения доли пожилого населения растёт не только число заболевших, но и скорость распространения: на сегодняшний день среди 50 миллионов случаев деменции во всём мире, БА занимает более 60 %. Согласно прогнозам, к 2050 году количество заболевших увеличится в 2–3 раза [4–7].

К сожалению, в патогенезе БА нет единой согласованной теории. Так, ряд исследователей выделяют важную роль тау-протеина, в норме выполняющего в клетке транспортные функции, а в случае БА образующего внутриклеточные нейрофибриллярные клубочки, приводящие к нарушению вышеуказанной функции и гибели клетки [7, 8]. Однако одной из самых общепризнанных и распространённых версий считается «амилоидная гипотеза», основанная на нарушении метаболизма белка-предшественника β -амилоида — APP (Amyloid precursor protein), что приводит к появлению сенильных бляшек в тканях мозга, основным элементом которых и является нейротоксический белок β -амилоид [7, 9, 10]. В пользу данного варианта свидетельствует тот факт, что по мере прогрессирования БА количество бляшек неуклонно увеличивается. Кроме того, считается, что именно образование амилоидных структур в межклеточном пространстве нервной ткани способно запустить гиперфосфорилирование тау-протеина, что в свою очередь приводит к цепи событий, вызывающих гибель большого количества нейронов [8, 10]. По мере развития заболевания наблюдаются каскадные изменения целого ряда структур: одновременное ухудшение функций практически всех нейротрансмиссивных систем, нарушение связи с вторичными посредниками, появление хронической нейровоспалительной реакции и запуск процессов апоптоза, изменение экспрессии ряда генов, а также нарушение синаптической пластичности [6, 8, 11, 12].

Существующие на данный момент лекарственные средства, применяемые в терапии БА, направлены в основном на коррекцию симптомов, часто сопряжены с широким спектром нежелательных лекарственных реакций и предполагают длительный, пожизненный приём [5, 6, 13]. Причиной подобной ситуации является как недостаточная изученность этиопатогенетических звеньев БА, так и широкое многообразие факторов, способствующих её развитию.

Подобная гетерогенность БА предполагает создание аналогичного, комплексного подхода к коррекции, и

возможным вариантом решения этого вопроса может стать применение соединений фосфорилацетогидразидов (ФАГ). Фосфорилацетогидразиды относятся к классу фосфорилированных карбоновых кислот — соединений на основе четырёхкоординированного атома фосфора, который способен содержать несколько функционально активных групп, каждая может иметь свою мишень в патологическом процессе [14, 15]. Ранее было показано, что, благодаря такой химической структуре, ФАГ имеют мультитаргетный механизм действия и способность корректировать функции важнейших для развития деменций нейротрансмиссивных систем [14, 16, 17]. Это позволило позиционировать наиболее перспективное производное ФАГ — соединение 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенил фосфорилацетогидразид (КАПАХ), как потенциальное лекарственное средство с комплексным механизмом действия, способное улучшать функции мозга при деменциях и различных нарушениях памяти [15, 17, 18].

С целью адекватности прогноза трансляционных исследований по эффективности лекарственных средств в клинике необходим выбор оптимальных моделей БА на экспериментальных животных. Моделирование БА на животных позволяет получить как новые сведения о патогенезе, так и определить новые направления к коррекции.

Современная наука отдаёт предпочтение двум подходам к формированию БА на животных: стереотаксический и генно-модифицированный [10, 18, 19].

Метод стереотаксического формирования БА является более простым и менее дорогостоящим по сравнению с генно-модифицированным подходом и на первом этапе изучения может служить адекватной моделью для выявления эффективности потенциальных лекарственных средств. Стереотаксический метод основан на введении нейротоксических агентов в различные зоны головного мозга животных [10, 19, 20]. Наиболее распространённой считается модель, основанная на введении амилоидных фрагментов в мозг животных. При этом предпочтение отдаётся более длинноцепочечным формам ($A\beta$ 1-42), поскольку именно они обладают большей способностью к агрегации и нейротоксичностью [10, 18]. В этом случае β -амилоид вводят в область гиппокампа, являющегося центром консолидации памяти, уменьшение размеров которого служит одним из ранних диагностических признаков деменции. У животных наблюдаются прогрессирующая нейродегенерация с поведенческими расстройствами, нарушением процессов памяти и обучаемости [10, 18, 20].

Таким образом, учитывая изученную ранее способность КАПАХ оказывать влияние на функции нейромедиаторных систем, играющих ключевую роль в развитии деменций при БА, целью работы стало изучить его способность корректировать поведение крыс со стереотаксической моделью БА, вызванной введением β -амилоида.

Материалы и методы исследования / Materials and methods of research

В качестве объекта исследования использовалось перспективное соединение ряда ФАГ — КАПАХ: 2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенил фосфорилацетогидразид (рис. 1). ФАГ представляют ряд соединений, содержащих четырёхкоординированный атом фосфора, который способен удерживать несколько функционально активных групп, способных воздействовать на различные звенья патологического процесса [14, 15, 17].

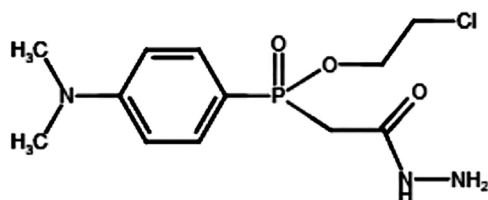


Рис. 1. Структурная формула КАПАХ (2-хлорэтокси-пара-N-диметиламинофенил фосфорилацетогидразид)
Fig. 1. Structural formula of CAPAH (2-chloroethoxy-para-N-dimethylaminophenyl phosphorylacetohydrazide)

КАПАХ был синтезирован на кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» под руководством ведущего научного сотрудника, кандидата химических наук *Р.И. Тарасовой* и в настоящее время находится на завершающей стадии доклинических исследований.

Формирование стереотаксической модели БА / Formation of a stereotaxic model of AD

Исследования были проведены в НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО «Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ на оборудовании ЦКП «Молекулярные и клеточные технологии». В экспериментах были использованы 24 самки белых крыс линии Wistar массой 200–250 г. возрастом 4 месяца. Крысы содержались в хорошо вентилируемом, освещённом, отапливаемом помещении при 12-часовом световом цикле, не более пяти в одной клетке и имели свободный доступ к еде и воде при необходимости.

До начала проведения экспериментов все испытуемые животные содержались в стандартных условиях, при естественном световом режиме на полнорациональной сбалансированной диете (согласно ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением международных требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях, а также согласно «Правила надлежащей лабораторной практики», утверждённым приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016.

При выборе и проведении поведенческих исследований были использованы методы, описанные в «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21].

Для формирования БА была использована стереотаксическая модель с введением нейротоксического белка β-амилоида в область гиппокампа животных. Известно, что именно агрегация β-амилоида считается одним из главенствующих аспектов патогенеза БА, а симптоматика, наблюдаемая у животных после его введения, сходна с нарушениями, проявляемыми у человека [10, 18, 19].

Животные были разделены на три группы (по 8 животных в каждой). Крысам первых двух групп с использованием стереотаксиса (BIOCAD, Россия) билатерально в область гиппокампа CA1 вводили по 5 мкл заранее проинкубированного при 37 °C β-амилоида 1–42 (Sigma-Aldrich, USA) с использованием стереотаксического атласа по координатам: ML — 2,0 мм, в AP — 3,6 мм, DV — 1,8 мм [22]. Крысам третьей (контрольной группы) стереотаксически по этим же координатам вводили в том же объёме фосфатно-солевой буфер (PBS, Sigma-Aldrich, USA), являющийся растворителем для β-амилоида. Раствор для введения готовили следующим образом: β-амилоид 1–42 (Sigma-Aldrich, USA) растворяли в PBS до концентрации 2 мкг/мкл с последующей агрегацией в термостате при 37 °C в течение 7 дней.

Начиная с 11-го дня после операции, крысы первой опытной группы (со стереотаксическим введением β-амилоида) получали ежедневные внутрибрюшинные инъекции КАПАХ в дозе 10 мг/кг в течение 10 дней. Животные второй опытной группы (со стереотаксическим введением β-амилоида) и крысы контрольной группы (со стереотаксическим введением фосфатного буфера) получали ежедневные внутрибрюшинные инъекции физиологического раствора в том же объёме. После 10 дней введения КАПАХ и физиологического раствора проводили поведенческие тесты «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Водный лабиринт Морриса». Введение КАПАХ и физиологического раствора продолжали и в дни тестов (рис. 2).

Методы поведенческого тестирования / Behavioral testing methods

А) Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) применяли для оценки состояния тревожности [23]. Этот тест позиционируется как один из наиболее чувствительных для исследования тревожности животного [21]. Установка (НПО «Открытая наука», Россия) представляет собой объединение четырёх пластиковых отсеков, два из которых окружены с 3 сторон непрозрачными стенками — «закрытые рукава» (ЗР) (длина рукавов 50 см, высота стенок 30 см, ширина рукавов 14 см). Два оставшихся не имеют стен и являются «открытыми рукавами» (ОР). Закрытые рукава являются аналогом норы, а открытые — потенциально опасной

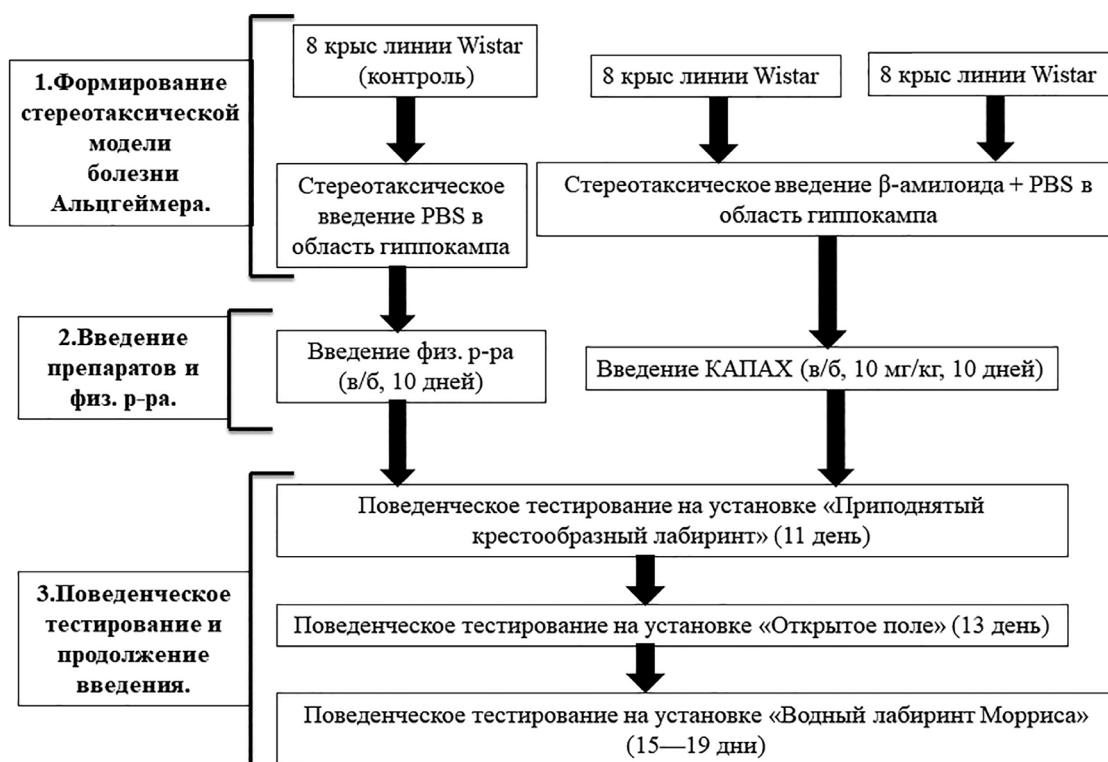


Рис. 2. Дизайн эксперимента
Fig. 2. Experiment Design

областью. Продолжительность тестирования для каждого животного составляла 5 минут. Крысу помещали в центр лабиринта, носом к открытому рукаву. Критерием, по которому регистрировалось захождение в определённый отсек, считалось наличие всех 4 лап животного внутри помещения [20]. После тестирования каждого животного осуществляли дезодорацию поверхности установки с использованием 3 % перекиси водорода. После каждой группы крыс установку обрабатывали 70 % раствором этанола.

За 5 минут тестирования регистрировали время нахождения в открытых рукавах (ОР) установки как показатель уровня тревожности [23].

Б) Тест «Открытое поле» (НПО «Открытая наука», Россия) предназначен для изучения двигательной исследовательской активности животных [21, 24]. Установка представляет собой камеру круглой формы с непрозрачными стенами (диаметром 97 см, высота стенок 42 см). Пол установки расчерчен на сектора для удобства визуальной регистрации. Кроме того, в полу имеются отверстия, имитирующие норки (диаметром 2 см). Критерием перехода из одного сектора в другой являлось нахождение задних лап в новом секторе. После тестирования каждого животного осуществляли дезодорацию поверхности установки с использованием 3 % перекиси водорода. После каждой группы крыс установку обрабатывали 70 % раствором этанола.

Испытуемое животное помещали в центр установки и за 3 минуты тестирования регистрировали:

1. Число пересечённых линий, что отражает неспецифический уровень возбуждения (двигательная активность);

2. Количество обследованных отверстий, что является показателем исследовательской активности [24, 25].

В) Тест «Водный лабиринт Морриса» использовали для исследования процессов памяти и обучения. Метод основан на том, что животное ищет кратчайший путь в бассейне с водой до спрятанной там «спасительной» платформы на основании предыдущих знаний в процессе обучения о её местонахождении [21, 26].

Лабиринт Морриса представляет собой круглый бассейн (диаметр 1,5 м, глубина — 0,6 м), заполненный водой. В центре одного из секторов бассейна на глубине 1,5–2 см под водой располагается скрытая платформа размером 10 × 10 см, которая в процессе обучения животных должна находиться на одном и том же месте. Воду перед началом эксперимента подкрашивали обезжиренным молочным порошком, чтобы животное не видело сквозь воду установленную платформу. Во время эксперимента поддерживали постоянную температуру воды (+25 °C), так как температурные перепады могут искажать достоверность полученных результатов. Для ориентации животных в бассейне использовали набор так называемых зрительных ориентиров, устанавливае-

мых вокруг бассейна, расположенных по сторонам света — север, юг, запад, восток. На первом этапе животное обучали в течение 3 последовательных дней, по 3 сессии в день. Крыс осторожно опускали в воду мордой к бортику в одной из четырёх стартовых точек на периметре бассейна, выбранных таким образом, чтобы расстояние от них до платформы было приблизительно равным. Животному давали минуту на самостоятельный поиск платформы. Если в течение этого времени крыса не находила платформу, её аккуратно туда направляли. Крысе давали посидеть на платформе в течение 15 с, после чего её перемещали в клетку для просушки. На 4-й день после окончания этапа обучения проверяли показатели памяти. Для того «спасительную» платформу убрали из установки и в течение 1 минуты регистрировали время нахождения животного в зоне, где ранее располагалась платформа. При нормальном состоянии процессов памяти и обучения животное больше времени пребывало в зоне прежнего расположения платформы [26–28].

Регистрация поведенческих изменений животных проводилась с помощью программы для видеотрекинга ANY-maze (Stoelting Co., США). Исследовательская активность животных (количество обследованных отверстий) в тесте «Открытое поле» оценивалась при визуальном анализе видеофайлов с помощью программы RealTimer версии 1.15 (НПО «Открытая наука», Россия).

Полученные результаты обрабатывали статистически при помощи однофакторного дисперсионного анализа ANOVA, где фактором служила принадлежность к экспериментальной группе (контроль, модель без «лечения», модель после «лечения») в программе Graph Pad Prism 8.0.1. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез — $p < 0,05$. Результаты поведенческих тестов представлены в виде $M \pm SEM$, где M — среднее значение, SEM — стандартная ошибка среднего, p — уровень значимости.

Результаты / Results

Результаты изучения поведения животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» представлены на рис. 3.

Как видно из рис. 3, крысы со стереотаксической моделью БА существенно меньше времени пребывали в «открытых руках» (ОР) лабиринта — в 3,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными, что может свидетельствовать о повышенном уровне их тревожности. Многократное введение (11 дней) КАПАХ в режиме «лечения» способствовало развитию анксиолитического эффекта: животные этой группы проводили в 4,6 раза ($p < 0,05$) больше времени в «ОР» по сравнению с «нелечеными» крысами (рис. 3).

Результаты изучения поведения животных в тесте «Открытое поле» представлены на рис. 4 (А, Б).

При проведении тестирования установлено, что для животных с моделью БА было характерно снижение двигательной активности, что выражалось в

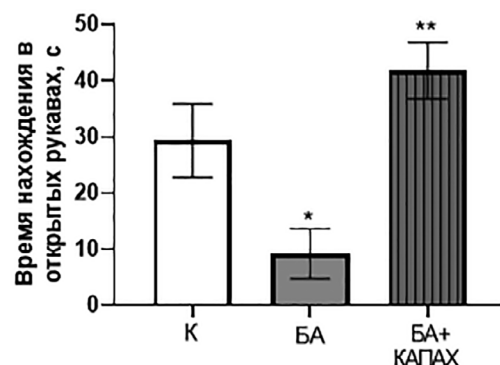


Рис. 3. Влияние КАПАХ на время нахождения в открытых руках у крыс со стереотаксической моделью болезни БА в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Fig. 3. Influence of CAPAX on the time spent in the open arms in rats with a stereotaxic model of AD disease in the «Elevated Plus Maze» test

Примечания: по оси абсцисс — время нахождения в «открытых руках», с; по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы; ** ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю группы «без лечения» (БА).

Notes: along the abscissa axis — the time spent in the "open arms", s; along the y-axis — groups of animals; * ($p < 0,05$) — statistically significant differences in relation to the indicator of the control group; ** ($p < 0,05$) — statistically significant differences in relation to the indicator of the "no treatment" group (BA).

уменьшении количества пересечённых линий в 1,9 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольными животными. При этом многократное введение КАПАХ способствовало нормализации данного показателя до уровня здоровых (контрольных) животных (рис. 4А).

При изучении исследовательской активности статистически значимых отличий между группами выявлено не было (рис. 4Б).

Результаты изучения поведения животных в тесте «Водный лабиринт Морриса» представлены на рис. 5.

Как видно из рисунка, крысы со стереотаксической моделью БА без введения КАПАХ тратили в 1,5 ($p < 0,05$) раза больше времени на поиск платформы по сравнению с контрольными животными, что может свидетельствовать о возможных нарушениях когнитивных функций и процессов памяти. При этом время поиска платформы у группы крыс с моделью БА, получавшей КАПАХ, не отличалось от показателей контрольных животных, что может указывать на корригирующее влияние КАПАХ на процессы памяти и обучения.

Обсуждение / Discussion

Согласно имеющимся данным литературы, в концепции терапии БА необходим комплексный подход [4, 6, 9]. Ранее было показано, что КАПАХ и другие соединения ряда фосфорилацетогидразидов обладают мультитаргетным механизмом действия, играющим важную роль в процессах памяти и обучения [14].

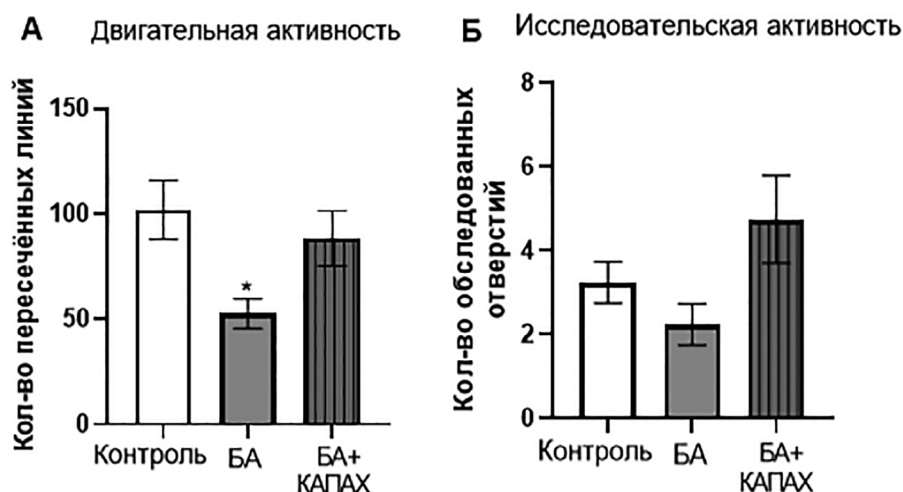


Рис. 4. Влияние КАПАХ на двигательную (А) и исследовательскую (Б) активность крыс с моделью БА в тесте «Открытое поле»

Fig. 4. Effect of CAPAH on motor (A) and exploratory (B) activity of rats with AD model in the «Open field» test

Примечания: по оси абсцисс — показатели активности; по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы; ** ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю группы «без лечения» (БА).

Notes: on the abscissa axis — activity indicators; on the ordinate axis — groups of animals; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the indicator of the control group; ** ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the indicator of the group "without treatment" (BA).

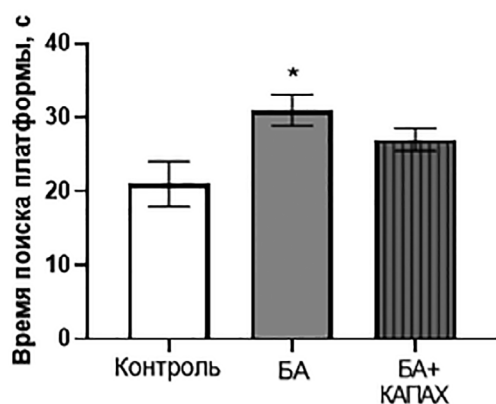


Рис. 5. Влияние КАПАХ на время нахождения в зоне платформы крыс с моделью БА в тесте «Водный лабиринт Морриса»

Fig. 5. Influence of CAPAH on the time spent in the area of the platform in rats with AD model in the «Morris Water Maze» test

Примечания: по оси абсцисс — время поиска платформы, с; по оси ординат — группы животных; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: along the abscissa axis — platform search time, s; along the y-axis — groups of animals; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences in relation to the control group.

Так, КАПАХ проявляет свойства частичного агониста глициновых стрихнин-нечувствительных рецепторов NMDA-рецепторного комплекса, взаимодействует с нейрокининовыми NK₁-рецепторами подобно ней-

ропептиду субстанции Р, проявляет антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства. Благодаря этому механизму КАПАХ обладает мнемотропным, антиамнестическим, нейропротекторным, антидепрессивным действием в эксперименте [14, 15, 17].

В данной работе представлены результаты влияния препарата КАПАХ на поведение и когнитивные способности крыс с моделью БА, вызванной путём стереотаксического введения β -амилоида в область гиппокампа. Эта модель получила широкое распространение и считается одним из оптимальных подходов к формированию БА, поскольку она является доступным и достоверным методом воспроизведения *in vivo* амилоидоза и последующих процессов гибели нейронов [20]. Известно, что одним из важнейших признаков БА считается появление амилоидных агрегатов, локализованных в основном во внеклеточном пространстве гиппокампа и коры [10, 18, 20]. Поэтому введение патогенного агента проводится именно в гиппокамп — центр консолидации памяти, а именно, зону CA1 — область, наиболее подверженную нейродегенеративным изменениям, и реже в область неокортекса [10, 20]. Следует отметить, что предпочтение отдаётся длинноцепочечным формам β -амилоида из-за их повышенной нейротоксичности и большей способности к агрегации [10, 13]. При подобных манипуляциях у животных наблюдаются симптомы, схожие с БА у людей: повышенная тревожность, нарушения процессов памяти и обучаемости [10, 18, 20].

Установлено, что препараты, используемые в клинической практике при БА, способны проявлять положительный эффект в данной модели. Так, в ряде исследований было показано, что введение мемантина и антихолинэстеразных средств животным со стереотаксической моделью БА, вызванной путём введения β -амилоида в область гиппокампа, способствует снижению выраженности когнитивных нарушений, симптомов нейродегенерации, а также нормализации поведения [19, 29].

Однако нужно понимать, что при помощи стереотаксического подхода невозможно исследовать этиологию и механизм развития БА, поскольку данная методика направлена на изучение конкретного звена патогенеза — β -амилоидных структур, а также может сопровождаться дополнительными травмами мозга [20].

Основным симптомом БА является нарушение памяти и когнитивных функций. Тест «Водный лабиринт Морриса» позволяет более широко оценивать когнитивные функции в комплексе с пространственной памятью. Эффективность методики подтверждена многочисленными исследованиями в области изучения гиппокамп-зависимой пространственной навигации и «референс-памяти» [27]. Нарушение процессов памяти и когнитивных функций крыс со стереотаксической моделью БА выражалось в увеличении продолжительности поиска спасательной платформы по сравнению с контрольными животными. Многократное введение КАПАХ корригировало эти нарушения — показатели «леченых» крыс не отличались от контрольных значений.

Состояние повышенной тревожности крыс со стереотаксической моделью БА было показано в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»: крысы без «лечения» значительно больше времени проводили в ОР рукавах лабиринта, которые считаются потенциально опасной областью. Применение КАПАХ оказывало анксиолитическое действие, которое выражалось в увеличении длительности пребывания в ОР по сравнению с животными без «лечения». Данные, полученные в тесте «Открытое поле», продемонстрировали снижение двигательной активности у «нелеченых» крыс с БА, которые устранялось при введении КАПАХ.

Анализируя результаты коррекции соединением КАПАХ поведенческих нарушений у крыс с моделью БА, можно сделать вывод, что его эффективность может быть обусловлена способностью одновременно оказывать влияние на патогенетические звенья патологического процесса на данной модели: взаимодействовать с NMDA-рецепторным комплексом через глициновые

стрихнин-нечувствительные участки, оказывать влияние на холинергические структуры через нейрокининовые NK-1 рецепторы, проявлять антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства [14, 15, 17].

Полученные результаты являются основанием для исследования этого соединения на генно-модифицированных моделях БА, созданных путём внесения изменений в экспрессию генов, отвечающих за метаболизм β -амилоида: белка-предшественника β -амилоида APP, и семейства пресенилинов (*PSEN*). Подобные вмешательства влекут за собой увеличение агрегации β -амилоида и образование сенильных бляшек, а у животных проявляются симптомы, сходные с таковыми у пациентов, имеющих БА — снижение когнитивных функций, которые предшествуют образованию бляшек [10, 18, 19].

Выводы / Conclusions

Многократное введение КАПАХ оказывает положительное влияние на процессы обучения и памяти у крыс со стереотаксической моделью болезни Альцгеймера, вызванной путём введения β -амилоида в область гиппокампа, а также уменьшает состояние тревожности, что было продемонстрировано на поведенческих установках «Водный лабиринт Морриса» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ADDITIONAL INFORMATION

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest in the submitted article.

Участие авторов. Семина И. И. — концепция и дизайн исследования, общий анализ полученных данных, консультация при написании текста; Малиновская Н. А. — подготовка и планирование работы; Никитин Д. О. — проведение экспериментов, обработка полученных результатов, написание текста; Никитина А. В. — участие в проведении экспериментов и обработке полученных результатов; Семёнова А. А. — помощь в планировании экспериментов.

Participation of authors. Semina II — concept and design of the study, general analysis of the data obtained, consultation when writing the text; Malinovskaya NA — preparation and planning of work; Nikitin DO — conducting experiments, processing the results, writing the text; Nikitina AV — participation in experiments and processing of the results; Semyonova AA — assistance in planning experiments.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Сёмина Ирина Ивановнаe-mail: seminai@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

д. м. н., профессор кафедры фармакологии, заведующая центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Semina Irina I.e-mail: seminai@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Dr. Sci (Med.), Professor of the Department of Pharmacology, Head of the Central Research Laboratory FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Малиновская Наталия Александровнаe-mail: malinovskaya-na@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0033-3804>

д. м. н., зав. кафедрой биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, с. н. с. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, Российская Федерация

Malinovskaya Nataliya A.e-mail: malinovskaya-na@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0033-3804>

Dr. Sci (Med.), Head of the Department of Biological Chemistry with courses in Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Senior Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry FSBEI HE Prof. V.F. Voino-Yasenetsky KrasSMU MOH Russia, Krasnoyarsk, Russian Federation

Никитин Дмитрий Олегович*Автор, ответственный за переписку*e-mail: richard4777@yandex.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5773-867X>

Ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Nikitin Dmitry O.*Corresponding author*e-mail: richard4777@yandex.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5773-867X>

Assistant of the Department of Pharmacology FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Никитина Анастасия Вадимовнаe-mail: namovol@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6219-6246>

Ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Nikitina Anastasiya V.e-mail: namovol@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6219-6246>

Assistant of the Department of Pharmacology FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Семёнова Алина Асатовнаe-mail: alina_shamsutdin@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2682-8979>

к. б. н., старший преподаватель кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, н. с. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск, Российская Федерация

Semenova Alina A.e-mail: alina_shamsutdin@mail.ruORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2682-8979>

PhD, Cand. Sci. (Biology), senior lecturer of the Department of Biological Chemistry with a courses of medical, pharmaceutical and toxicological chemistry, researcher at the Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, FSBEI HE Prof. V.F. Voino-Yasenetsky KrasSMU MOH Russia, Krasnoyarsk, Russian Federation

Список литературы / References

- Васенина Е.Е., Левин О.С., Сонин А.Г. Современные тенденции в эпидемиологии деменции и ведении пациентов с когнитивными нарушениями. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. Спецвыпуски. 2017;117(6-2):87–95. [Vasenina EE, Levin OS, Sonin AG. Modern trends in epidemiology of dementia and management of patients with cognitive impairment. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2017;117(6-2):87–95. (In Russ.).] DOI: 10.17116/jnevro20171176287-95.
- Кичерова О.А., Рейхерт Л.И. Болезнь Альцгеймера. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018;118(1):77–81. [Kicherova OA, Reikherth LI. Alzheimer's disease. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2018;118(1):77–81. (In Russ.).] DOI: 10.17116/jnevro20181181177-81.
- Науменко А.А., Громова Д.О., Трофимова Н.В., Преображенская И.А. Диагностика и лечение болезни Альцгеймера. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2016;8(4):91–97. [Naumenko AA, Gromova DO, Trofimova NV, Preobrazhenskaya IS. Alzheimer's disease: diagnosis and treatment. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2016;8(4):91–97. (In Russ.).] DOI: 10.14412/2074-2711-2016-4-91-97.
- Смекалкина Л.В., Мельников А.И., Наприенко М.В. Болезнь Альцгеймера: анализ современных и перспективных методов диагностики (обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий*. Электронное издание. 2022. № 5. Публикация 1-3. [Smekalkina LV, Melnikov AI, Naprienko MV. Bolezni' Al'cgejmerya: analiz sovremennyh i perspektivnyh metodov diagnostiki (obzor literatury) [Alzheimer's disease: analysis of modern and perspective diagnosis methods (literature review)]. *Journal of New Medical Technologies*. e-edition. 2022. (In Russ.).] DOI: 10.24412/2075-4094-2022-5-1-3.
- Язуина Н.А., Комлева Ю.К., Салмина А.Б., и др. Эпидемиология болезни Альцгеймера в мире. *Неврологический журнал*. 2012;17(5):32–37. [Yauzina NA, Komleva Yu.K., Salmina AB, et al. Epidemiology of Alzheimer's disease in the world. *Journal of Neurology*. 2012;17(5):32–37. (In Russ.).]
- Науменко А.А., Преображенская И.С. Патогенез, диагностика и терапия болезни Альцгеймера. *Медицинский совет*. 2015;(5):46–54. [Naumenko AA, Preobrazhenskaya IS. Patogenez, diagnostika i terapiya bolezni Al'cgejmerya. *Meditsinskiy sovet*. 2015;(5):46–54. (In Russ.).] DOI: 10.21518/2079-701X-2015-5-46-54.
- Григоренко А.П., Рогачев Е.И. Молекулярные основы болезни Альцгеймера. *Молекулярная биология*. 2007;41(2):331–345. [Grigorenko AP, Rogachev EI. Molecular basics of alzheimer's disease. *Molekulyarnaya biologiya*. 2007;41(2):331–345. (In Russ.).]
- Тювина Н.А., Балабанова В.В. Лечение болезни Альцгеймера. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2015;7(3):80–85. [Tyuvina NA, Balabanova VV. Treatment for Alzheimer's diseases. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2015;7(3):80–85. (In Russ.).] DOI: 10.14412/2074-2711-2015-3-80-85.
- Котов А.С., Елисеев Ю.В., Семенова Е.И. Болезнь Альцгеймера: от теории к практике. *Медицинский совет*. 2015;(18):41–45. [Kotov AS, Eliseev YuV, Semenova EI. Bolezni' Al'cgejmerya: ot teorii k praktike. *Meditsinskiy sovet*. 2015;(18):41–45. (In Russ.).] DOI: 10.21518/2079-701X-2015-18-41-45.
- Иптышев А.М., Горина Я.В., Лопатина О.Л. и др. Экспериментальные модели болезни Альцгеймера: преимущества и недостатки. *Сибирское медицинское обозрение*. 2016;(4):5–21. [Iptyshev AM, Gorina YaV, Lopatina OL, et al. Experimental models of Alzheimer's disease: advantages and disadvantages. *Siberian Medical Review*. 2016;(4):5–21. (In Russ.).]
- Regen F, Hellmann-Regen J, Costantini E, Reale M. Neuroinflammation and Alzheimer's Disease: Implications for Microglial Activation. *Curr Alzheimer Res*. 2017;14(11):1140–1148. DOI: 10.2174/156720501466170203141717.
- Ng A, Tam WW, Zhang MW, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer's disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2018 Aug 13;8(1):12050. DOI: 10.1038/s41598-018-30487-6.
- Лобзин В.Ю., Колмакова К.А., Емелин А.Ю. Новый взгляд на патогенез болезни Альцгеймера: современные представления о клиренсе амилоида. *Обзор психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева*. 2018;(2):22–28. [Lobzin VYu, Kolmakova KA, Emelin AYU. A novel view on Alzheimer's disease pathogenesis: modern concept of amyloid clearance. *V.M. Bekhterev review of psychiatry and medical psychology*. 2018;(2):22–28. (In Russ.).] DOI: 10.31363/2313-7053-2018-2-22-28.
- Семина И.И., Шиловская Е.В., Тарасова Р.И. и др. Механизмы психотропного действия гидразидов фосфорилированных карбоновых кислот. *Химико-фармацевтический журнал*. 2002;36(4):3–6. [Semina II, Shilovskaya EV, Tarasova RI, et al. Mekhanizmy psihotropnogo deystviya gidrazidov fosforilirovannyh karbonovyh kislot. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2002;36(4):3–6. (In Russ.).] DOI: 10.30906/0023-1134-2002-36-4-3-6.
- Никитина А.В., Семина И.И., Байчурина А.З., и др. Новые производные фосфорсодержащих соединений с аминокислотными и триазолтионными фрагментами — потенциальные лекарственные средства, улучшающие память и когнитивные функции. *Казанский медицинский журнал*. 2023;104(1):72–80. [Nikitina AV, Semina II, Baychurina AZ, et al. New derivatives of phosphorus-containing compounds with amino acid and triazolethione fragments are potential drugs that improve memory and cognitive functions. *Kazan medical journal*. 2023;104(1):72–80. (In Russ.).] DOI: 10.17816/KMJ108603.
- Семина И.И., Байчурина А.З., Шиловская Е.В. и др. Исследование метаболических нарушений у крыс при воздействии гипобарической гипоксии и разработка подходов коррекции путём одновременного воздействия на разные звенья патогенеза. *Казанский медицинский журнал*. 2021;102(5):654–662. [Semina II, Baychurina AZ, Shilovskaya EV, et al. Study of metabolic disorders in rats under exposure to hypobaric hypoxia and development of correction approaches by simultaneous action on different elements of pathogenesis. *Kazan medical journal*. 2021;102(5):654–662. (In Russ.).] DOI: 10.17816/KMJ2021-654.
- Семина И.И., Байчурина А.З. Разработка новых потенциальных лекарственных средств с психотропной активностью среди фосфориллацетогидразидов и других производных фосфорилированных карбоновых кислот — приоритетное направление Казанской школы психофармакологов. *Казанский медицинский журнал*. 2016;97(1):148–155. [Semina II, Baychurina AZ. Development of new potential drugs with psychotropic activity among phosphorylaceto hydrazides and other phosphorylated carboxylic acids derivatives — priority area of Kazan school of psychopharmacologists. *Kazan medical journal*. 2016;97(1):148–155. (In Russ.).] DOI: 10.17750/KMJ2016-148.
- Шмакова А.А., Андросова Л.В. Моделирование болезни Альцгеймера на животных. *Психиатрия*. 2018;1(77):97–108. [Shmakova A, Androsova L. Modeling Alzheimer's disease in animals. *Psikiatriya*. 2018;1(77):97–108. (In Russ.).] DOI: 2618-6667-2018-77-97-108.
- Колобов В.В., Сторожева З.И. Современные фармакологические модели болезни Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2014;8(3):38–44. [Kolobov VV, Storozheva ZI. Modern pharmacological models of Alzheimer's disease. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2014;8(3):38–44. (In Russ.).] DOI: 10.17816/psaic173.
- Facchinetti R, Bronzuoli MR, Scuderi C. An Animal Model of Alzheimer Disease Based on the Intrahippocampal Injection of Amyloid β -Peptide (1-42). *Methods Mol Biol*. 2018;1727:343–352. DOI: 10.1007/978-1-4939-7571-6_25.
- Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. / под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К; 2012. [Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasiliev AN, et al. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1 / ed by AN Mironov. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.).]
- Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates sixth edition by. *Acad. Press*. 2006;170(547612):10–1016.
- Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2(2):322–328. DOI: 10.1038/nprot.2007.44.
- Sestakova N, Puzserova A, Kluknavsky M, et al. Determination of motor activity and anxiety related behavior in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. *Interdisciplinary Toxicology*. 2013;6(3):126–135. DOI: 10.2478/intox-2013-0020.
- Henry BL, Minassian A, Young JW, et al. Cross-species assessments of motor and exploratory behavior related to bipolar disorder. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010 Jul;34(8):1296–1306. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2010.04.002.
- Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Демин В.А. Методические особенности применения водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных функций у животных. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016;102(1):3–17. [Ivlieva AL, Petritskaya EN, Rogatkin DA, Demin VA. Methodological Characteristics of the Use of the Morris Water Maze for Assessment of Cognitive Functions in Animals. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2017;47(4):484–493. (In Russ.).] DOI: 10.1007/s11055-017-0425-z.
- Чернюк Д.П., Большакова А.В., Власова О.Л., Безпрозванный И.Б. Возможности и перспективы поведенческого теста «Водный лабиринт Морриса». *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2021;107(3):267–287. [Chernyuk DP, Bol'shakova AV, Vlasova OL, Bezprozvanny IB. Opportunities and prospects of the behavioral test "morris water maze". *Russian Journal of Physiology*. 2021;107(3):267–287. (In Russ.).] DOI: 10.31857/S0869813921030043.
- Svensson M, Hallin T, Broms J, et al. Spatial memory impairment in Morris water maze after electroconvulsive seizures. *Acta Neuropsychiatr*. 2017 Feb;29(1):17–26. DOI: 10.1017/neu.2016.22.
- Capurro V, Busquet P, Lopes JP, et al. Pharmacological characterization of memquin, a multi-target compound for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2013;8(2):e56870. DOI: 10.1371/journal.pone.0056870.