

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.153.96:616.894-053.9

©Соколик, Мальцев

### РЕАКЦИЯ ЦИТОКИНОВОГО ЗВЕНА НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ НА ДЕЙСТВИЕ $\beta$ -АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА 1-40 В ГОМОАГРЕГАТНОЙ И ЛИПОСОМНОЙ ФОРМАХ У КРЫС

*В.В. Соколик<sup>1\*</sup>, А.В. Мальцев<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт неврологии, психиатрии и наркологии НАМН Украины,  
Украина, 61068, Харьков, ул. Академика Павлова, 46; тел.: 8(057)7384083;  
факс: 8(057)7383387; эл. почта: sokolik67@rambler.ru

<sup>2</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Московская обл; эл. почта: avmaltus@rambler.ru

В исследовании на крысах была воспроизведена инъекционная модель доклинического этапа болезни Альцгеймера. Показали, что уменьшение латентного периода условно-рефлекторной реакции избегания сопровождается повышением уровня эндогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 и активация цитокинового звена воспаления (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10) в коре головного мозга, гиппокампе и сыворотке крови экспериментальных животных. Мы полагаем, что выявленные на биохимическом уровне изменения служат условием модулирования нейрональной функции у крыс под действием A $\beta$ 40<sub>Human</sub>. Токсический эффект гомоагрегатной формы экзогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 вызывал интенсивный ответ цитокиновой системы, тогда как его липосомная форма обуславливала мягкий информационный сигнал к активации врождённого иммунитета. Самым информативным маркером наличия нейровоспаления оказался фактор некроза опухоли- $\alpha$ , а амилоидогенного статуса – эндогенный  $\beta$ -амилоидный пептид 1-40.

**Ключевые слова:**  $\beta$ -амилоидный пептид 1-40, цитокины, нейровоспаление, болезнь Альцгеймера.

**DOI:** 10.18097/PBMC20156103373

## ВВЕДЕНИЕ

Цитокины играют ведущую роль во взаимодействии двух интегративных систем организма: нервной и иммунной. В зависимости от обстоятельств они способны принимать активное участие не только в патогенезе нейровоспаления, но и в восстановительных процессах повреждённых участков мозга. Бессимптомной нейродегенерации гиппокампа и коры больших полушарий головного мозга предшествуют годы и десятилетия хронического воспаления и амилоидоза доклинического этапа болезни Альцгеймера (БА).

Причины возникновения и развития БА не установлены [1-3]. Существует три основные теории патологии БА. Наиболее старая – холинергическая, согласно которой БА является следствием нарушения синтеза нейротрансмитера ацетилхолина. Амилоидная гипотеза постулирует, что причина БА состоит в отложении агрегатов  $\beta$ -амилоидного пептида, которые вызывают дисфункцию синапсов нейронов с их последующей дегенерацией [4-7]. Тау-гипотеза акцентируется

на том, что гиперфосфорилирование белка тау запускает патологический каскад в нейронах, начиная с дезинтеграции микротрубочек аксона и заканчивая коллапсом всей транспортной системы нейрона [8-12]. В целом БА характеризуется снижением количества синаптических контактов и уменьшением пула функциональных нейронов в коре мозга и центральной субкортикальной зоне, что приводит к деградации нейрональной сети. Другими словами, наблюдается грандиозная и необратимая атрофия зоны распознавания, анализа и сохранения информации в соответствующих отделах головного мозга.

Недавние исследования выявили участие нейровоспаления в патогенезе БА. В частности, было установлено, что повышение содержания интерлейкина-6 (IL-6) и С-реактивного белка в сыворотке крови ассоциируется с ухудшением познавательных способностей у пациентов с БА [13-15]. Имеются данные о непосредственном участии фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) в развитии амилоидоза путём стимуляции всего каскада цитокинов [16].

\* - адресат для переписки

При хронизации воспалительного процесса IL-1 $\beta$  индуцирует освобождение из микроглии системного провоспалительного медиатора IL-6, который, в свою очередь, регулирует классические механизмы метаболизма нейронов, в том числе функционирование митогенактивированных протеинкиназ (MAPKs) и ядерного фактора транскрипции (NF- $\kappa$ B) [17]. Однако, на поздних этапах развития БА амилоидоз сопровождается угнетением активности цитокиновой системы и снижением сывороточных уровней TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8 и др. [18-20].

Целью исследования явилось изучение влияния человеческого  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 (A $\beta$ 40\_Human) на уровень ряда цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) и эндогенного A $\beta$ 40 у крыс на инъекционной модели доклинического периода болезни Альцгеймера. Известно, что крысы практически не подвержены амилоидозу. В отличие от человеческого  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 у аналогичного пептида грызунов выявлены три аминокислотные замены (R5G, Y10F, H13R). Однако лишь первая из них несколько снижает заряд N-конца данного пептида крыс. Две другие замены (Y10F, H13R) в аминокислотной последовательности A $\beta$ 40\_Rat являются практически равноценными и не могут обусловить отсутствие у него амилоидогенности. Поэтому ряд исследователей связывают неподверженность грызунов патологиям альцгеймеровского типа со структурой их  $\beta$ -амилоидных пептидов [21, 22]. A $\beta$ 40\_Rat характеризует более компактная структура глобулы, по сравнению с A $\beta$ 40\_Human, развёрнутая конформация которого способствует агрегации.

$\beta$ -Амилоидный пептид 1-40 человека, является не только агрегационно агрессивным пептидом, но и крайне липофильным веществом. После освобождения в межклеточное пространство он преимущественно связывается с липопротеинами высокой плотности (ЛВП). При этом липидные составляющие липопротеиновых частиц предотвращают его агрегацию. Хорошо известно, что ЛВП являются доминирующей фракцией в липопротеиновом спектре крыс, в отличие от человека [23]. Эта видовая особенность также может служить функциональной предпосылкой неподверженности грызунов амилоидозу.

Поэтому одной из задач эксперимента было сравнение эффектов гомоагрегатной и липосомной форм A $\beta$ 40\_Human на цитокиновое звено нейровоспаления и уровень эндогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 у крыс.

## МЕТОДИКА

Исследование проведено на 50 крысах-самцах половозрелого возраста весом 200-250 г, у которых в течение 20 суток формировали условный рефлекс: стойкую условно-рефлекторную реакцию избегания. При работе руководствовались "Общими этическими принципами экспериментов на животных" (Украина, 2001).

## Формирование устойчивой условно-рефлекторной реакции избегания

В общей группе крыс условно-рефлекторную реакцию избегания формировали на базе безусловного рефлекса. В клетке, оборудованной перегородкой с окошком, каждому животному предъявляли условный раздражитель (звук метронома с частотой 300 ударов в минуту). Крыса должна была перебежать через окошко во вторую половину клетки в течение 15 с. В случае отсутствия условно-рефлекторной реакции на животное действовал безусловный сигнал (электрический ток на металлической решетке пола клетки напряжением 30-40 В в течение 10 с). Каждой крысе ежедневно предъявляли условный раздражитель 5 раз с паузами 1-3 с. Положительным результатом считали безошибочные условно-рефлекторные ответы на звук метронома. Кроме доли позитивных реакций (в %), в исследовании регистрировали длительность латентного периода условно-рефлекторных ответов в секундах [24].

## Воспроизведение инъекционной модели болезни Альцгеймера.

Влияние  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 человека (A $\beta$ 40\_Human) в виде гомоагрегатов или в составе фосфолипид/холестериновых липосом изучали в условиях интрацеребрального введения его 15 нМ раствора в дозе 65 мкг пептида в зону левой лобно-фронтальной коры головного мозга крыс. Животных с устойчивой условно-рефлекторной реакцией избегания распределили в пять подгрупп: группа контроля (10 крыс); основная группа – животные, которым интрацеребрально вводили гомоагрегаты A $\beta$ 40\_Human (подгруппа А – 10 крыс) и 10 крыс, подвергшихся интрацеребральному воздействию человеческого  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 в составе липосом (подгруппа Б), а также группа сравнения: животные, которым интрацеребрально вводили бидистиллированную воду (подгруппа С – 10 крыс) и 10 крыс, подвергшихся интрацеребральному воздействию пустых липосом без A $\beta$ 40\_Human (подгруппа Д). Объем вводимых растворов составлял 10 мкл на животное. Хирургические вмешательства осуществляли под тиопенталовым наркозом (50 мг тиопентала/кг).

## Получение гомоагрегатов $\beta$ -амилоидного пептида 1-40

Раствор  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 (Human Amyloid  $\beta$  Protein Fragment 1-40, "Sigma-Aldrich") в бидистилляте агрегировали 24 ч при 37°C. Крупные грубые конгломераты A $\beta$ 40\_Human диспергировали с помощью ультразвука непосредственно перед введением.

## Получение липосомной формы $\beta$ -амилоидного пептида 1-40

Фосфолипид/холестериновые липосомы готовили как описано в работе Соломадина [25]. Для этого раствор липидов (фосфолипиды /холестерин = 2:1)

в хлороформе выпаривали. Липидную плёнку смывали бидистиллятом с растворённым *ex tempore* лиофилизированным  $\beta$ -амилоидным пептидом 1-40 (Human Amyloid  $\beta$  Protein Fragment 1-40, "Sigma-Aldrich") в той же концентрации, что и в случае с гомоагрегатами  $\beta$ A40\_Human. Соотношение липид/белок составляло 1:1000. Дальнейшее интенсивное встряхивание в присутствии стеклянных шариков приводило к формированию мультислойных везикул, которые превращали в маленькие монослойные липосомы ультразвуковой сонификацией.

Концентрацию  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 человека в полученных гомоагрегатах и липосомах уточняли с помощью ИФА-набора реагентов Human ELISA Kit (A $\beta$ 40 Human) фирмы "Invitrogen BCM DIAGNOSTICS" (США).

#### Забор биоматериала

Для определения концентрации эндогенного A $\beta$ 40 и цитокинов забор крови и участков мозга (лобно-фронтальная кора и гиппокамп) осуществляли на 7 сутки после интрацеребрального введения A $\beta$ 40\_Human в составе гомоагрегатов или липосом. Именно в этот период наблюдалось увеличение латентного периода условно-рефлекторной реакции избегания. В этот же период декапитировали животных групп контроля и сравнения.

Сыворотку крови получали путём центрифугирования образцов венозной крови при 3 тыс. об./мин в течение 15 мин и хранили при -20°C. Образцы тканей мозга (лобно-фронтальная кора, гиппокамп) хранили до измерения также в замороженном виде. Гомогенаты нервной ткани готовили в присутствии ингибиторов внутриклеточных протеаз (Protease Inhibitor Cocktail) для сохранения эндогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 и цитокинов от разрушения.

#### Биохимические исследования

Концентрацию A $\beta$ 40\_Rat и цитокинов измеряли в гомогенатах тканей исследуемых участков мозга (лобно-фронтальная кора, гиппокамп) и в сыворотке крови методом иммуно-ферментного анализа (ELISA)

с помощью соответствующих наборов реагентов Rat ELISA Kits (A $\beta$ 40, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) фирмы "Invitrogen BCM DIAGNOSTICS" и выражали в мкг на г общего белка или в нг на л сыворотки крови. Концентрацию общего белка определяли методом Лоури [26].

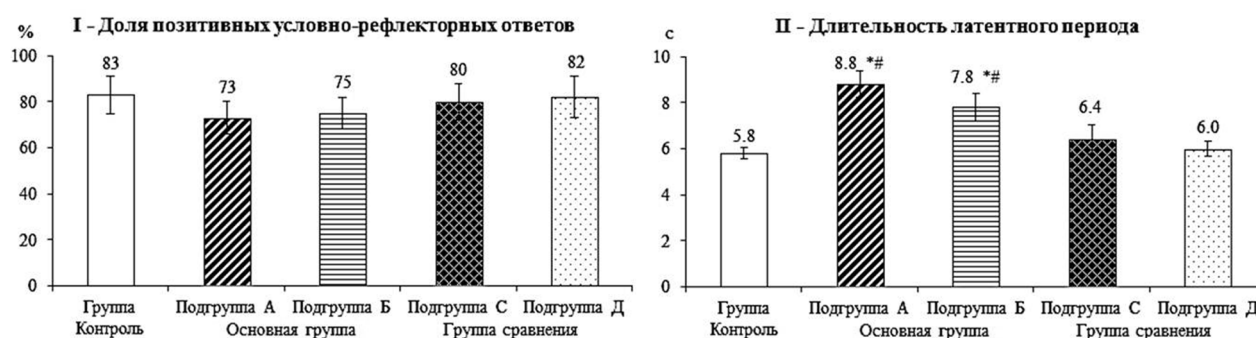
#### Статистическая обработка результатов исследования

Полученные данные обрабатывали статистически, вероятность различий оценивали по t-критерию Стьюдента, убедившись предварительно в нормальности распределения. Критическим уровнем значимости (p) при проверке статистических гипотез считали 0,05. Вычисление выполняли в программе Statistica 6.0.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 представлено влияние A $\beta$ 40\_Human на долю (I) и латентный период (II) позитивных условно-рефлекторных ответов в группах контроля, основной и сравнения экспериментальных животных. Необходимо отметить, что постепенный рост доли положительных ответов на условный раздражитель при формировании условно-рефлекторной реакции избегания у крыс не сопровождался существенным уменьшением длительности латентного периода условно-рефлекторной реакции избегания, в течение которого животные вспоминали и принимали решение о необходимости правильно реагировать. В общем, на всей выборке животных этот показатель составлял в среднем 5,8 с и отвечал присущей им скорости условно-рефлекторной реакции избегания на фоне 83% уровня положительных ответов (рис. 1).

Интрацеребральное введение  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 человека существенно не сказалось на доле положительных условно-рефлекторных ответов независимо от состояния вводимого A $\beta$ 40\_Human: гомоагрегат или в составе липосом (рис. 1, I). Это свидетельствует о сохранении нейрональных путей и отсутствии разрушения нейронов на ранних этапах взаимодействия A $\beta$ 40 с клетками головного мозга. Аналогично



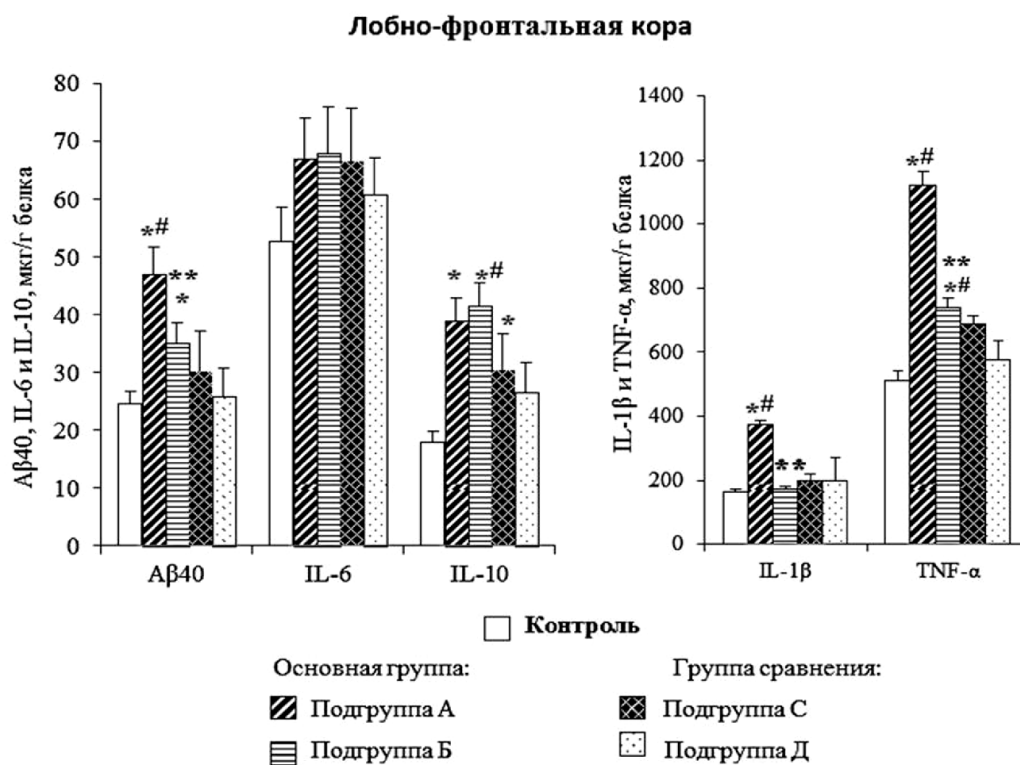
**Рисунок 1.** Эффект интрацеребрального введения A $\beta$ 40\_Human на параметры условно-рефлекторной реакции избегания подопытных крыс: долю позитивных ответов (I) и длительность латентного периода (II). \* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем, # -  $p \leq 0,05$  по сравнению с соответствующими подгруппами из группы сравнения.

не было обнаружено эффекта введения бидистиллированной воды и пустых липосом. В нашем предыдущем исследовании [27] в условиях электролитического разрушения участка левой лобно-фронтальной коры крыс с условно-рефлекторным стереотипом, напротив, наблюдали выпадения положительных условно-рефлекторных ответов и расторможение дифференцировок, что свидетельствовало о дисфункции нейронов и повреждении нейрональной сети головного мозга животных.

В настоящем исследовании обнаружился эффект  $A\beta_{40}$ \_Human на длительность латентного периода условно-рефлекторных ответов (рис. 1, II), а именно: увеличение этого показателя в 1,4 раза по сравнению с группой контроля (с 5,8 с при выработанной условно-рефлекторной реакции избегания до 8,4 с под действием  $A\beta_{40}$ ). При этом наблюдали зависимость степени изменений от состояния действующего на нейроны экзогенного  $A\beta_{40}$ . В виде гомоагрегатов он приводил к более выраженному росту длительности латентного периода условно-рефлекторных ответов (в 1,5 раза в подгруппе А), по сравнению с действием в составе липосом (в 1,3 раза в подгруппе Б). В группе сравнения достоверных различий при сопоставлении с контролем для данного показателя выявлено не было (рис. 1, II, подгруппы С и Д), тогда как различия между соответствующими подгруппами основной группы и группы сравнения (подгруппы А/С и Б/Д) оказались статистически значимыми. Таким образом,

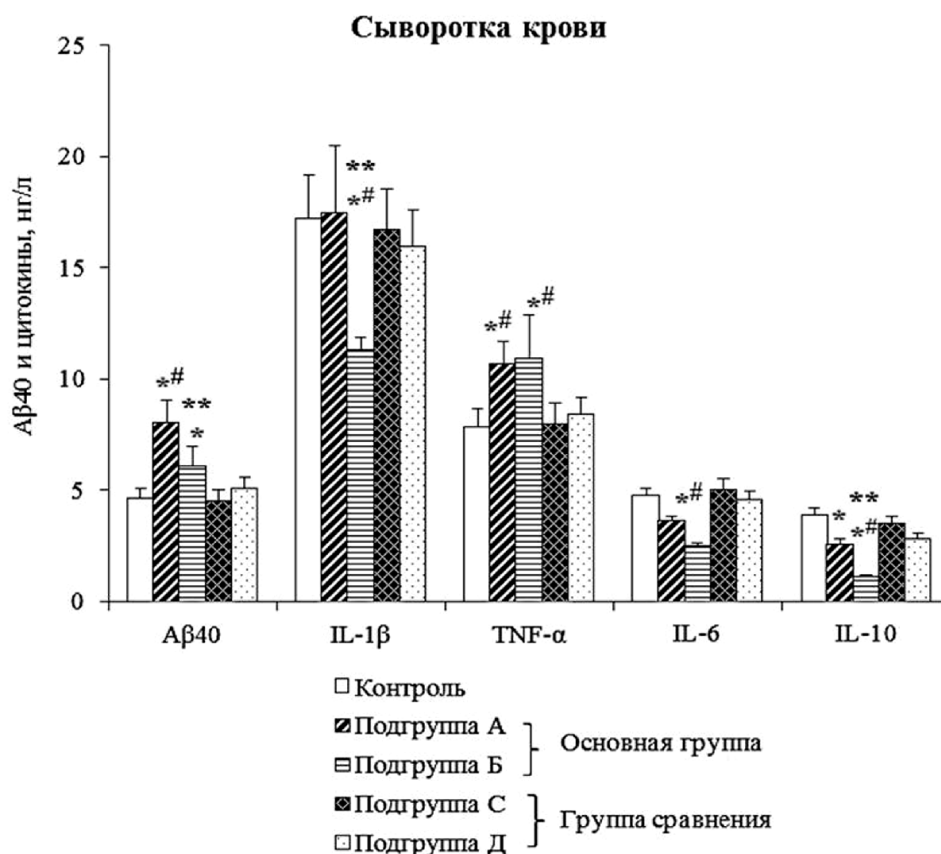
в экспериментальной модели доклинического этапа болезни Альцгеймера ухудшение памяти животных характеризуется увеличением времени воспоминания и только затем, в случае нарушения нейрональной сети, неспособностью вспомнить прошлое.

Дальнейший поиск первичных механизмов ответа церебрального метаболизма на влияние  $A\beta_{40}$ \_Human привел к изучению интермедиатов воспалительного процесса в головном мозге крыс. Так, в лобно-фронтальной коре головного мозга (рис. 2), где происходило непосредственное взаимодействие гомоагрегатов этого пептида с нервными клетками, было выявлено повышение на 90% (по сравнению с контролем) и на 56% (по сравнению с эффектом бидистиллята) уровня эндогенного  $A\beta_{40}$  через неделю после воздействия.  $A\beta_{40}$ \_Human в составе фосфолипид-холестериновых липосом увеличивал содержание  $A\beta_{40}$ \_Rat лишь на 42% от контрольного уровня, однако это повышение оказалось статистически незначимым при сопоставлении с эффектом пустых липосом. Данная специфика нашла своё отражение и в динамике концентрации  $A\beta_{40}$ \_Rat в сыворотке крови подопытных животных (рис. 3): влияние гомоагрегатов  $A\beta_{40}$ \_Human вызывало увеличение концентрации эндогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 на 74%, тогда как липосомная форма введенного пептида – на 32%, по сравнению с контролем. Однако, сопоставление эффекта липосомной формы  $A\beta_{40}$ \_Human и пустых липосом не обнаружило статистически достоверных различий, как и в лобно-фронтальной коре.



**Рисунок 2.** Влияние  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 на уровень эндогенного  $A\beta_{40}$  и цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10) в лобно-фронтальной коре головного мозга крыс. \* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем, \*\* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с эффектом гомоагрегатов  $A\beta_{40}$ \_Human, # -  $p \leq 0,05$  по сравнению с соответствующими подгруппами из группы сравнения.



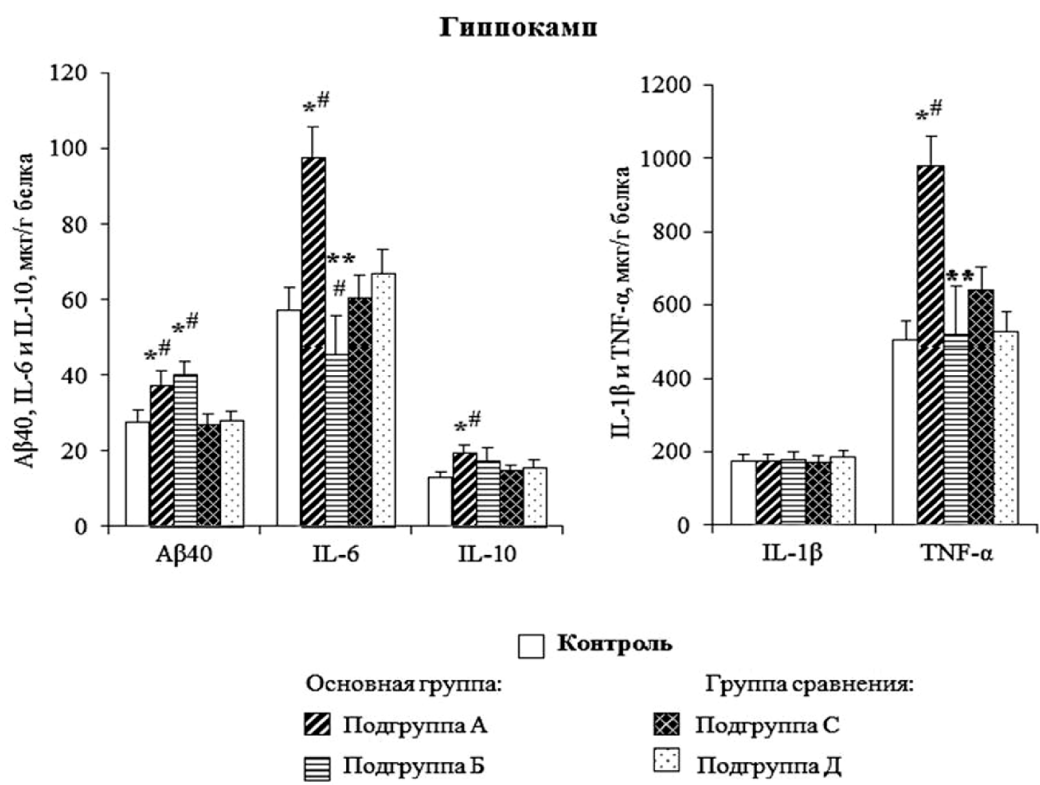


**Рисунок 3.** Влияние  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 на уровень эндогенного A $\beta$ 40 и цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10) в сыворотке крови крыс. \* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем, \*\* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с эффектом гомоагрегатов A $\beta$ 40\_Human, # -  $p \leq 0,05$  по сравнению с соответствующими подгруппами из группы сравнения.

В гиппокампе крыс (рис. 4) достоверной разницы в увеличении содержания A $\beta$ 40\_Rat в зависимости от состояния вводимого пептида выявлено не было: гомоагрегаты и липосомная формы A $\beta$ 40\_Human вызвали повышение уровня этого показателя на 35% и 45%, по сравнению с контролем и подгруппами сравнения.

Изучение цитокинового звена воспаления выявило разноплановые изменения уровней про- и противовоспалительных цитокинов в лобно-фронтальной коре, гиппокампе и сыворотке крови крыс под влиянием A $\beta$ 40\_Human (рис. 2-4). Токсическое действие гомоагрегатов A $\beta$ 40 вызвало двукратное увеличение уровней провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) и противовоспалительного интерлейкина IL-10 в лобно-фронтальной коре (рис. 2) и в 1,5 раза TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-10 в гиппокампе (рис. 4) головного мозга подопытных животных, по сравнению с контрольным уровнем этих показателей. При сопоставлении с соответствующей подгруппой сравнения только для содержания IL-10 в лобно-фронтальной коре различие с эффектом бидистиллята нивелировалось. Проекцией нейровоспаления в сыворотке крови животных было некоторое повышение концентрации TNF- $\alpha$  и нормализация уровней IL-6, IL-10 (рис. 3).

Экзогенный A $\beta$ 40 в составе фосфолипид-холестериновых липосом вызывал увеличение уровней только TNF- $\alpha$  и IL-10 в лобно-фронтальной коре (рис. 2). При этом в гиппокампе изменений не наблюдалось (рис. 4), а вот в сыворотке крови росла концентрация TNF- $\alpha$  на фоне снижения концентраций интерлейкинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 (рис. 3). Кроме вышеприведенного объяснения нетоксичности неагрегированного A $\beta$ 40\_Human, есть ещё одна причина обнаруженной меньшей активации цитокиновой системы при действии липосомной формы этого пептида, по сравнению с эффектом гомоагрегатов. А именно: его меньшая биодоступность в составе липосом. В данном исследовании было установлено, что при равных исходных концентрациях растворов A $\beta$ 40\_Human (15 нМ) в агрегированной или липосомной формах иммуно-ферментный метод показывает в 2,5 раза меньшую концентрацию пептида в липосомной суспензии. Это свидетельствует о том, что антигенные детерминанты части молекул A $\beta$ 40\_Human скрыты от антител в фосфолипид-холестериновом слое липосом, никак не взаимодействуют с микроокружением и поэтому не способны инициировать нейровоспаление у крыс.



**Рисунок 4.** Влияние  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 на уровень эндогенного A $\beta$ 40 и цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10) в гиппокампе головного мозга крыс. \* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем, \*\* -  $p \leq 0,05$  по сравнению с эффектом гомоагрегатов A $\beta$ 40\_Human, # -  $p \leq 0,05$  по сравнению с соответствующими подгруппами из группы сравнения.

Известно, что цитокины и их рецепторы присутствуют во многих структурах головного мозга, в том числе в коре больших полушарий и гиппокампе, где они выполняют функции межклеточных медиаторов ЦНС [28]. Недавно появилось сообщение, что A $\beta$ 40 также имеет непосредственное отношение к врождённому иммунитету [29]. По своим антибактериальным свойствам A $\beta$ 40 напоминает антимикробные пептиды (АМП), которые составляют основу врождённого иммунитета большинства многоклеточных организмов. От антител, являющихся основой приобретённого или специфического иммунитета, АМП отличается тем, что они могут функционировать в ЦНС (по ту сторону гемато-энцефалического барьера) и защищать нейроны от различных бактериальных и грибковых патогенов, вирусов и даже раковых клеток.

В нейронах и клетках нейроглии A $\beta$ 40 может функционировать в качестве внутриклеточного медиатора воспаления. Показано, что белки с  $\alpha$ -секретазной активностью, определяющие неамилоидогенный процессинг белка предшественника амилоида (APP), локализованы преимущественно в наружной мембране, тогда как  $\beta$ -секретазы – во внутренних мембранах клеток, прежде всего таких компартментов, как комплекс Гольджи, эндоплазматический ретикулум, митохондрии и эндосомы [30]. Повышенный внеклеточный уровень провоспалительных цитокинов, в частности TNF- $\alpha$ ,

провоцирует ферменты их метаболизма TACE (фактор некроза опухоли- $\alpha$  превращающий фермент) из семейства белков ADAM17 “отвлекаться” от неамилоидогенного процессинга APP. В результате APP вынужден метаболизировать амилоидогенным путем во внутренних мембранах с высвобождением  $\beta$ -амилоидного пептида. Последний в этом сценарии играет роль внутриклеточного медиатора воспаления.

В настоящем исследовании было показано, что уменьшение латентного периода условно-рефлекторной реакции избегания сопровождается повышением уровня эндогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 и активация цитокинового звена воспаления. Мы полагаем, что выявленные на биохимическом уровне изменения служат условием модулирования нейрональной функции у крыс под действием A $\beta$ 40\_Human.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Экспериментальная модель доклинического этапа болезни Альцгеймера у крыс характеризовалась сохранением доли положительных условно-рефлекторных ответов и удлинением их латентного периода в 1,4 раза. Интрацеребральное введение A $\beta$ 40\_Human в гомоагрегатной форме вызвало увеличение уровня эндогенного  $\beta$ -амилоидного пептида 1-40 и активацию цитокинового звена воспаления в лобно-фронтальной коре, гиппокампе

и сыворотке крови подопытных крыс. Мы связываем такой эффект с токсичностью гомоагрегатов данного пептида, которая сопровождается развёртыванием активированной микроглии цитокинового каскада, а также возможной индукцией синтеза белка предшественника амилоида (APP) и его процессинга по амилоидогенному пути [31, 32]. Липосомная форма экзогенного Аβ40 вызывала только мягкий информационный сигнал к инициации врожденного иммунитета. Фосфолипид/холестериновый контейнер Аβ40<sub>Human</sub>, в качестве эссенциальной модели ЛВП, способен взаимодействовать с мембранами любых клеток, презентуя пептид для связывания с паттерн-распознающими рецепторами – первым оплотом врожденного иммунитета [33, 34]. Однако цитокиновый ответ в этом случае оказался слабее. Поэтому эти результаты мы интерпретируем как мягкую гормезисную реакцию врожденного иммунитета на информационный сигнал об избыточной локальной концентрации экзогенного Аβ40. Хочется отметить универсальность, но в то же время и регулируемую дозированность, цитокиновой активации выявленную в данном исследовании на животной инъекционной модели болезни Альцгеймера. Наиболее информативным маркером нейровоспаления оказался TNF-α, а амилоидогенного статуса – эндогенный Аβ40. Поэтому именно на эти показатели необходимо прежде всего обращать внимание у пациентов с генетической предрасположенностью к болезни Альцгеймера.

Авторы искренне благодарны коллегам д.б.н. О.Г. Берченко и Н.А. Левичевой за помощь в проведении хирургических вмешательств и на этапе выделения отдельных структур мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Querfurth H.W., LaFerla F.M.* (2010) *N. Engl. J. Med.*, **362**, 329-344.
2. *Hardy J., Guerreiro R.* (2011) *EMBO Mol. Med.* **3**(5), 247-248.
3. *Ещенко Н.Д.* (2004) Биохимия психических и нервных болезней, СПб, Изд-во С.-Петерб. ун-та.
4. *Hardy J., Selkoe D.J.* (2002) *Science*, **297**, 353-356.
5. *Кудинова Н.В., Березов Т.Т., Кудинов А.Р.* (1999) *Биохимия*, **64**(7), 899-905.
6. *Соколик В.В.* (2010) *Вопр. биол., медиц. и фармацевт. химии*, №3, 3-8.
7. *Соколик В.В.* (2010) *Вопр. биол., медиц. и фармацевт. химии*, №6, 36-44.
8. *Avila J., Lucas J.J., Perez M., Hernandez F.* (2004) *Physiol. Rev.*, **84**, 361-384.
9. *Johnson G.V., Bailey C.D.* (2002) *J. Alzheimers Dis.*, №4, 375-398.
10. *Alonso A.C., Li B., Grundke-Iqbal I., Iqbal K.* (2006) *PNAS*, **103**(23), 8864-8869.
11. *Соколик В.В.* (2008) Материалы XII Конгресса Мировой федерации украинских медицинских обществ, Ивано-Франковск, 259-260.
12. *Завалишин И.А., Захарова М.Н.* (2003) *Журн. неврол. и психиатр.*, №1, 54-60.
13. *Greig N.H., Mattson M.P., Perry T.* (2004) *Ann N.-Y. Acad. Sci.*, **1035**, 290-315.
14. *McGeer E.G., McGeer P.L.* (2005) *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **27**(5), 741-749.
15. *Shafiel S.S., Kyrkanides S., Olschowka J.A.* (2007) *J. Clin. Invest.*, **117**(6), 1595-1604.
16. *Akama K.T., Van Eldic L.G.* (2000) *J. Biolog. Chemistry*, **275**(11), 7913-7924.
17. *Парахонский А.П.* (2013) *Фундаментальные исследования*, №1, 117-118.
18. *Kim S.-M., Song J., Kim S.* (2011) *BioMed Central Neurology*, **11**(51), 2-6.
19. *Richartz E., Stransky E., Batra A.* (2005) *J. Psychiatr. Res.*, **39**(5), 535-543.
20. *Akiyama H., Barger S., Barnum S.* (2000) *Neurobiol. Aging*, **21**(3), 383-421.
21. *Yun M., Keshvara L., Park C.-G.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 36572-36581.
22. *Huang J., Yao Y., Lin J.* (2004) *J. Biol. Inorg. Chem.*, **9**, 627-635.
23. *Куликов В.А., Чиркин А.А.* (2004) *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, №1, 26-27.
24. *Vorobjova T.M.* (1969) *The federation of American societies for experimental biology*, **70**(12), 95-101.
25. *Соломадин И.Н.* (2012) Механизмы токсического действия β-амилоидных пептидов на эритроциты и клетки мозга. Автореф. дисс. канд. биол. наук.
26. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* (1951) *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
27. *Соколик В.В., Кіріллова Н.О.* (2012) *Вісн. пробл. біол. і медиц.*, **1**(91), 177-185.
28. *Labrousse V.F., Costel L., Aubert A.* (2009) *PLoS One*, **4**(6), e6006.
29. *Soscia S.J., Kirby J.E., Washicosky K.J.* (2010) *PLoS One*, **5**(3), e9505.
30. *Asai M., Hattori C., Szabo B. et al.* (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **301**(1), 231-235.
31. *Slack B.E., Wurtman R.J.* (2007) *Regulation of Synthesis and Metabolism of the Amyloid Precursor Protein by Extracellular Signals*. In: *Research progress in Alzheimer's disease and dementia*, №2, 1-25.
32. *Мухамедьяров М.А., Зефилов А.Л.* (2013) *Успехи физиологических наук*, **44**(1), 55-71.
33. *Salminen A., Ojalaa J., Kauppinena A. et al.* (2009) *Progress in Neurobiology*, **87**(3), 181-194.
34. *Cameron B., Landreth G.E.* (2010) *Neurobiology of Disease*, **37**(3), 503-509.

Поступила: 26. 11. 2013.

**CYTOKINES NEUROINFLAMMATORY REACTION TO THE ACTION  
OF HOMOAGGREGATIC AND LIPOSOMAL FORMS OF  $\beta$ -AMYLOID 1-40 IN RATS**

*V.V. Sokolik<sup>1</sup>, A.V. Maltsev<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of Natinal Academy of Medical Sciences of Ukraine,  
61068, Ukraine, Kharkov, 46 Ac. Pavlova str.; tel.: 8(057)7384083; fax: 8(057)7383387;  
e-mail: sokolik67@rambler.ru

<sup>2</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
Pushchino, Moscow Region, Russia; e-mail: avmaltus@rambler.ru

An injection model of preclinical stages of Alzheimer's disease has been reproduced in rats. It was accompanied by the decrease in the latent period of conditioned reflex avoidance, increasing levels of endogenous  $\beta$ -amyloid peptide 1-40 and activation of inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10) in the cerebral cortex, hippocampus and blood serum of experimental animals. We believe that changes identified at the biochemical level are prerequisite to modulate neuronal functions in rats induced by A $\beta$ 40\_Human administration. The toxic effect of exogenous  $\beta$ -amyloid 1-40 homoaggregates caused intense response of the cytokine system, while its liposomal form caused the soft information signal to the activation of innate immunity.

**Key words:**  $\beta$ -amyloid peptide 1-40, cytokines, neuroinflammatory, Alzheimer's disease.