

Современные фармакологические модели болезни Альцгеймера

В.В. Колобов, З.И. Сторожева

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН;

ФГБУ «Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского» Минздрава России (Москва)

Экспериментальные модели болезни Альцгеймера (БА) *in vivo* являются мощными инструментами для исследования механизмов патогенеза и поиска новых терапевтических средств. Фармакологические модели, основанные на введении в мозг нейротоксинов (бета-амилоидных фрагментов, холинотоксинов, иботеновой кислоты), позволяют воспроизводить характерные для БА когнитивные нарушения и оценивать эффективность влияния лекарственных препаратов на различные показатели (биохимические, генетические, электрофизиологические). Наибольшей наличной валидностью характеризуется *in vivo* модель введения нейротоксических бета-амилоидных фрагментов в базальные ядра переднего мозга.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, экспериментальные модели, нейротоксические бета-амилоидные фрагменты.

Введение

Несмотря на то, что генетическая предрасположенность является существенной для развития sporadических случаев БА, гены риска (конкретные мутации в них) пока окончательно не определены и обсуждаются. В связи с этим для тестирования потенциальных лекарственных средств *in vivo* широко используются фармакологические модели, основанные на введении в мозг нейротоксинов.

Тестирование когнитивных нарушений проводят, используя следующие модели: 1) условный рефлекс пассивного избегания, оценивающий долговременную память о полученном электрокожном раздражении [3, 18, 54]; 2) оценку долговременной и рабочей памяти в пространственной памяти в лабиринте Морриса [11, 31, 66]; 3) оценку кратковременной и долговременной памяти в тесте распознавания нового объекта, основанном на угашении ориентировочного рефлекса на знакомый объект при сохранении исследовательской активности в отношении нового объекта [55]; 4) тест спонтанного чередования в Y-образном лабиринте, оценивающий рабочую память [23, 33, 37, 49].

Изучают также влияние бета-амилоидных фрагментов (Аβ-фрагментов) и других токсических агентов на показатели электрофизиологической активности, в частности, на долговременную потенциацию и долговременную депрессию, развивающиеся при применении различных режимов стимуляции [26].

В некоторых исследованиях используют холинотоксины (скополамин, 1-этил-1-[2-гидроксиэтил]-азиринидиум хлорида, известный как АF-64А), а также иботеновую кислоту, вызывающую гибель нейронов в результате глутаматной эксайтотоксичности, или провоспалительные агенты, усиливающие эффект Аβ. Известно, что короткий фрагмент Аβ₂₅₋₃₅, аминокислотная последовательность GSNKGAIIGLM которого включает биологически активный регион G₃₃L₃₄M₃₅ [53], процессируется протеазами *in vivo* в головном мозге пациентов с БА [39]. Поэтому высокой конструктивной валидностью обладают фармакологические модели БА с применением в качестве фактора,

индуцирующего патологический процесс, внутримозговое введение Аβ-фрагментов.

Одной из проблем, возникающих при индукции нейродегенеративных процессов путем введения Аβ-фрагментов, является его относительно быстрый гидролиз в мозговой ткани. Поэтому наряду с Аβ_{22/25-35} используют более длинные фрагменты: Аβ_{1-40/42}, а также модифицированный фрагмент Аβ₂₅₋₃₅(Phe(SO₃H)₂₄)₂₅₋₃₅ [35]. Кроме того, наряду с растворенными используют олигомеризованные и/или агрегированные при 37°C формы различных Аβ-фрагментов (Аβ_{1-40/42}, Аβ_{22/25-35}). Существует также проблема контрольного воздействия, оптимальным решением которой является введение скрамблера соответствующего Аβ-фрагмента или пептида, имеющего обратную последовательность (Аβ_{40/42-1}, Аβ_{35-25,22}), однако такие воздействия применяются не всеми исследователями.

Наиболее распространенной является модель индукции нейродегенеративного процесса при введении Аβ-фрагментов в желудочки мозга. Введение производят однократно или несколько раз. Введение ундекапептида Аβ₂₅₋₃₅ приводит к выраженным токсическим эффектам: у крыс развивается нарушение памяти и обучения [12, 31, 47, 48, 55, 57, 61], а также горизонтальной двигательной активности [4]. Патоморфологические исследования подтвердили развитие морфологических признаков БА при использовании Аβ₂₅₋₃₅: так, на фронтальных срезах мозга гистологическими методами обнаружено большое число хроматофильных и ацидофильных нейронов в неокортексе, гиппокампе, коре и базальных ядрах переднего мозга, а также наблюдается значительное снижение числа нейронов и возрастание поврежденных нейронов и признаки окислительного стресса в коре и гиппокампе [20, 47, 48, 58]. Интрацеребровентрикулярные инъекции Аβ₂₅₋₃₅ и холинотоксина АF-64А приводят к развитию холинергического дефицита, что выражается в нарушении функционирования биосинтеза ацетилхолина с последующей гибелью холинергических нейронов [10, 47–49]. Выявлены также нарушения биоэлектрической активности гиппокампа [25, 27].

Моделирование симптомов болезни Альцгеймера у лабораторных грызунов при введении Аβ-фрагментов в желудочки мозга

таблица 1: Моделирование симптомов БА у лабораторных грызунов при введении Аβ-фрагментов в желудочки мозга.

Аβ-фрагмент	Животные	Контроль	Режим введения	Эффекты		Источник
				Поведенческие, электрофизиологические	Морфологические, биохимические	
Аβ ₁₋₄₂ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	нд	Снижение базового и К ⁺ -стимулируемого уровня секреции дофамина в префронтальной коре без существенных признаков нейродегенерации	[62]
Аβ ₁₋₄₀ , агрегация	Мыши <i>Albino Swiss</i>	ФР	1×	Нарушение кратковременной и долговременной памяти в тесте распознавания нового объекта	Признаки окислительного стресса: повышение уровня интерлейкина 1β и TNF-1α, снижение интерлейкина 10	[55]
Аβ ₂₅₋₃₅ , агрегация	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Нарушение пространственной памяти в лабиринте Морриса (перерыв между пробами – 30 минут)	Снижение активности СОД, повышение активности моноаминоксидазы, уровня интерлейкинов 1β, 6 и TNF-1α, а также количества нейронов с признаками апоптоза. Эффекты устранялись антагонистом полиаминового сайта глутаматных рецепторов скутеларином	[31]
Смесь Аβ ₁₋₄₀ и Аβ ₁₋₄₂ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	Аβ ₄₀₋₁	14 дней через осмотическую мини-помпу	Снижение общей реактивности, нарушение долговременной депрессии и долговременной потенциации в цервикальных ганглиях	нд	[12]
Аβ ₁₋₄₀ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	4-кратно через канюли или 14 дней через осмотическую мини-помпу	Нарушение долговременной памяти в модели распознавания объекта, сохранная сенсомоторная фильтрация	Снижение активности холинацетилтрансферазы, субстанции Р и экспрессии соматостатина в коре и гиппокампе	[47, 48]
Аβ ₂₅₋₃₅ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	Аβ ₃₅₋₂₅	1×	Нарушение пространственной памяти в лабиринте Морриса, нарушение гетеросинаптической фасилитации в срезах гиппокампа опытных животных при стимуляции ГАМК- и холинергического входов	нд	[61]
Аβ ₂₅₋₃₅ , агрегация	Крысы <i>Wistar</i> и <i>Lister Hooded</i>	Аβ ₃₅₋₂₅	1×	Нарушение долговременной потенциации в гиппокампе только у крыс <i>Wistar</i> и только при низкой интенсивности стимуляции	нд	[27]
Аβ ₂₅₋₃₅ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	Аβ ₃₅₋₂₅ , ФР	1×	Нарушение долговременной потенциации в гиппокампе при введении пептидов Аβ ₂₅₋₃₅ и Аβ ₃₅₋₂₅	нд	[24]
Аβ ₁₋₄₂ , агрегация	Крысы <i>Wistar</i> (зрелые и старые)	ДВ	1×	нд	Возрастание интенсивности перекисного окисления липидов, изменения экспрессии NO-синтазы, только у старых крыс – повышение активности каспазы-3	[20]
Аβ ₂₅₋₃₅ , без агрегации	Мыши	ФР	1×	Нарушение рабочей памяти в Y-образном лабиринте, а также пассивного избегания через 7 и 14 дней после введения	нд	[37]
Аβ ₁₋₄₂ , агрегация	Мыши	ФР	1×	Нарушение рабочей памяти в Y-образном лабиринте, а также пассивного избегания 14 дней после введения	Отложения Аβ, признаки окислительного стресса	[23]
Аβ ₁₋₄₂ , без агрегации	Мыши APP ^{SWE} /PS-1 ^{DE9}	ФР	4 раза через 7 дней	Нарушения долговременной пространственной памяти в лабиринте Морриса	нд	[66]
Аβ ₁₋₄₂ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	Аβ ₄₀₋₁	3 суток через осмотическую мини-помпу	Нарушение рабочей памяти в Y-образном лабиринте, долговременной пространственной памяти в лабиринте Морриса, пассивного избегания, развивающиеся от 25 к 85 дню	Нарушения холинергической иннервации коры, стриатума и гиппокампа, прогрессирующие к 85 дню	[49]
Аβ ₁₋₄₀ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	Аβ ₄₀₋₁	длительно через мини-помпу	Незначительные нарушения пространственной рабочей памяти, восстановление после окончательного введения. Потенциация эффекта длительным пероральным ведением алюминия	нд	[64]
Аβ ₂₅₋₃₅ , агрегация	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Длительные (до 110 дней) нарушения рабочей и кратковременной, но не долговременной памяти	нд	[56]
Аβ ₂₅₋₃₅ , агрегация	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Нарушения рабочей и долговременной памяти в радиальном лабиринте	Уменьшение числа нейронов в поле СА1 гиппокампа	[57]

Примечание: ФР – физиологический раствор, ДВ – дистиллированная вода, нд – нет данных, 1× – однократно. Если известна точная линия крыс или мышей, использованных в эксперименте, то это указано в табл.

В табл. 1 приведены результаты исследований, проведенных с использованием различных схем эксперимента. Разнообразие методических приемов и полученных результатов не дают возможности сделать однозначный вывод относительно преимуществ какого-либо протокола; при сравнении различных схем следует учитывать также соотношение затрат и качества.

Работы, исследующие влияние внутрижелудочкового введения Аβ-фрагментов трансгенным мышам, крайне немногочисленны и не выявляют преимуществ использования таких животных для фармакологических моделей БА. К тому же стоимость такой модели весьма высока, а использование в качестве скрининговой – проблематично. Существенными достоинствами обладает модель многократного введения Аβ-фрагментов крысам *Wistar*, в которой получены длительные когнитивные нарушения [49, 57]. При этом наиболее характерным является нарушение рабочей памяти, обеспечивающей выполнение навыка на основании взаимодействия между внутренней инструкцией и только что совершенным действием. В частности, рабочую память тестируют в лабиринте Морриса, когда животное должно находить скрытую под водой платформу, положение которой постоянно в течение сеанса, включающего несколько попыток, но меняется между сеансами. Существует модель тестирования рабочей памяти в радикальном многорукавном лабиринте с пищевым подкреплением, однако наиболее удобной и одновременно информативной является модель спонтанного чередования в Y-образном лабиринте, основанная на ориентировочно-исследовательской активности животных. При тестировании в этой модели мерой нарушения когнитивных процессов является количество повторных заходов животного в только что исследованные рукава лабиринта. Данные лите-

ратуры свидетельствуют, что именно этот вид когнитивных нарушений сохраняется в течение длительного времени после введения токсических Аβ-фрагментов. Что касается биохимических и морфологических маркеров окислительного стресса, нейровоспаления и нейродегенерации, то более эффективными являются агрегированные формы пептидов; кроме того, большая часть данных получена с использованием пептидов Аβ_{1-40/1-42} [57].

Одной из особенностей данного способа введения является его генерализованность, поскольку нейротоксин попадает в цереброспинальную жидкость и разносится ею по разным отделам ЦНС. Так, в модели выявляют нарушения электрофизиологических показателей пластичности в гиппокампе, активности различных нейромедиаторных систем в коре больших полушарий. Показано даже, что внутрижелудочковое введение Аβ₂₅₋₃₅ вызывает уменьшение массы бета-клеток поджелудочной железы [51]. К настоящему моменту неизвестно, отражает ли это процессы, происходящие при развитии БА, хотя попадание в кровь токсичных Аβ-фрагментов вследствие нарушения гематоэнцефалического барьера исключить нельзя. Тем более интересным представляется сравнение результатов, полученных при введении Аβ-фрагментов в желудочки и паренхиму мозга, в особенности в те его отделы, которые поражаются при БА в наибольшей степени.

Моделирование симптомов болезни Альцгеймера у лабораторных грызунов при введении Аβ-фрагментов в базальные ядра Мейнерта

Точечное введение фармакологических препаратов в скопления холинергических нейронов базальных ядер Мейнерта переднего мозга лишено недостатка интрацереб-

таблица 2: Моделирование симптомов БА у лабораторных грызунов при введении Аβ-фрагментов в базальные ядра Мейнерта.

Аβ-фрагмент	Животные	Использование контрольного пептида	Режим введения	Эффекты		Источник
				Поведенческие, электрофизиологические	Морфологические, биохимические, молекулярно-биологические	
Аβ ₂₃₋₃₅ , без агрегации	Крысы	нд	1×	нд	Отложение амилоидных фибрилл, снижение секреции ацетилхолина в коре до 4 месяцев, восстановление – через 6 месяцев после операции	[19]
Аβ ₁₋₄₂ , без агрегации	Крысы	нд	1×	нд	Отложение амилоидных фибрилл до 4 месяцев, снижение секреции ацетилхолина в коре до 4 месяцев, восстановление – через 6 месяцев после операции	[19]
Аβ ₁₋₂₅ , Аβ ₁₋₄₀ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Изменение двигательной и ориентировочной активности	Повышение внеклеточной концентрации возбуждающих аминокислот, снижение числа холинергических проекций в кору	[33]
Аβ ₂₅₋₃₅ , без агрегации	Крысы	ФР	1×	Нарушение долговременной памяти в модели пассивного избегания	Изменение активности генов, регулирующих апоптоз	[5–8]
Аβ ₂₅₋₃₅ , Аβ ₁₋₄₀ , агрегация	Крысы	Пептиды-скрамблеры	1×	Нарушение кратковременной памяти в тесте распознавания нового объекта (на первой неделе для Аβ ₂₅₋₃₅ и только начиная с 60 дней – для Аβ ₁₋₄₀)	Отложение агрегированных форм пептидов, гибель холинергических нейронов (до 21 дня для Аβ ₂₅₋₃₅ и не менее 60 дней для Аβ ₁₋₄₀)	[28]
Аβ ₁₋₄₂ , агрегация	Крысы	Пептиды-скрамблеры	1×	нд	Повышение экспрессии циклооксигеназы-2 и индуцибельной NO-синтазы, повышение содержания интерлейкина 1β экспрессии РЗМАРК, активация микроглии	[29]
Аβ ₂₅₋₃₅ (Phe(SO ₃ H) ₂₄) ₂₅₋₃₅ , без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Нарушение рабочей памяти в Y-образном лабиринте, изменение двигательной активности (снижение в открытом поле, повышение в домашней клетке, нарушение памяти в модели пассивного избегания)	Снижение числа холинергических проекций в кору	[35]

Примечание: обозначения те же, что указаны в примечании к табл. 1.

ровентрикулярного введения, поскольку в этом случае нейротоксин местно разрушает ядра, в первую очередь страдающие при БА, что приводит к нарушению эфферентных проекций к структурам головного мозга – гиппокампу и префронтальной коре [32, 42].

Поэтому широкое применение нашла экспериментальная модель, достаточно близкая по механизмам развития заболевания и воспроизводящая симптомы нарушения памяти при БА, в которой нейродегенеративный процесс вызывается введением нейротоксического фрагмента $A\beta_{25-35}$ в базальные ганглии ядра Мейнerta, являющиеся одним из основных источников холинергических проекций в кору больших полушарий [5–9, 33, 35], которые в своем составе имеют также и глутаматергические нейроны [30]. Основанием для такого экспериментального подхода к моделированию БА являются данные о связи когнитивного дефицита с нарушением активности холинергических проекций в кору больших полушарий из базальных ядер мозга вследствие токсических воздействий на нейроны этих структур, в том числе глутамата и $A\beta$ [22, 28, 33]. При использовании данной модели установлен факт развития распространенных дегенеративных изменений нейронов во фронтальной коре и гиппокампе, сопровождающийся когнитивными нарушениями, в частности, рабочей памяти в Y-образном лабиринте и долговременной памяти в модели пассивного избегания [9, 35]. Нарушается также распознавание объекта, т.е. воспроизводится один из основных симптомов когнитивного дефицита, характерного для БА. Выявляются признаки воспаления, а также снижения активности холинергической системы. Как видно из табл. 2, в случае использования агрегированных $A\beta$ -фрагментов когнитивные нарушения и биохимические маркеры воспалительного процесса в мозге сохраняются в течение довольно долгого времени, при этом патологические

нарушения, вызванные $A\beta_{25-35}$, проявляются раньше, чем при введении $A\beta_{1-40/42}$, однако в последнем случае они сохраняются в течение более длительного времени. Несмотря на то, что в данной модели первично индуцируются нарушения холинергической системы, и ее применяют для тестирования потенциальных холинергических нейропротекторов, она выявляет также и нейропротекторное влияние антагониста глутаматных рецепторов мемантина в отношении активации астроглии и микроглии [13, 34].

Вместе с тем выраженные признаки нейродегенерации, выявленные классическими методами, как и в случае внутрижелудочкового введения, обнаруживаются в данной модели достаточно редко. В основном оценивают косвенные показатели клеточной гибели: активность каспазы-3, снижение уровня ацетилхолина и числа холинергических проекций в кору и гиппокамп. Некоторые исследователи используют для моделирования БА введение иботеновой кислоты в базальные ядра [19], однако конструктивная валидность такого приема невысока, так как сводит патогенез заболевания к глутаматной эксайтотоксичности.

Моделирование симптомов болезни Альцгеймера у лабораторных грызунов при введении $A\beta$ -фрагментов в гиппокамп

Гиппокамп также является структурой, в которой поражения при БА выражены в значительной степени. Первоначально изучение токсичности $A\beta$ -фрагментов *in vitro* проводилось в основном на срезах гиппокампа. Однако первые работы, выполненные *in vivo* с введением $A\beta$ -фрагментов в ткань гиппокампа, не обнаружили столь же выраженных признаков нейродегенерации, как в работах *in vitro*. В связи с этим многие исследователи изучают эффекты комбинированного введения $A\beta$ -фрагментов с

таблица 3: Моделирование симптомов БА у лабораторных грызунов при введении $A\beta$ -фрагментов в гиппокамп.

Aβ-фрагмент	Животные	Контроль	Режим введения	Эффекты		Источник
				Поведенческие, электрофизиологические	Морфологические, биохимические, молекулярно-биологические	
$A\beta_{25-35}$, без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	$A\beta_{35-25}$	1×	Снижение нейрональной активности, подавление θ -ритма	нд	[52]
$A\beta_{1-42}$, агрегация	Крысы <i>Wistar</i>	ДВ	1×	Нарушение памяти в модели зоосоциального распознавания с 22 до 65 дня	Снижение уровня BDNF во фронтальной коре и 5-HT 2A рецепторов серотонина в гиппокампе	[21]
$A\beta_{1-42}$, агрегация + иботеновая кислота	Крысы <i>Long-Evans</i>	ДВ	1×	Нарушение рабочей памяти в водном лабиринте и радиальном лабиринте с пищевым подкреплением на 21 день	Повышение уровня глиального кислого фибриллярного белка в гиппокампе	[38]
$A\beta_{1-40}$ + иботеновая кислота	Крысы <i>Wistar</i>	ДВ	1×	Нарушение пассивного избегания и активного избегания в Y-образном лабиринте на 14 день	Признаки окислительного стресса	[40]
$A\beta_{1-40}$, без агрегации	Крысы <i>Wistar</i>	$A\beta_{40-1}$	Длительно через минипомпу	Отсутствие нарушений пространственной и рабочей памяти, проявление эффекта только при одновременном внутривentricularном введении скополамина	нд	[64]
105-аминокислотный предшественник бета-амилоида	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Нарушение рабочей памяти в лабиринте с пищевым подкреплением через 24 часа; эффект потенцируется введением фактора некроза опухолей TNF- α , но не интерлейкина 1 β	нд	[41]
$A\beta_{25-35}$, без агрегации + иботеновая кислота	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	нд	Гибель нейронов поля CA1	[45]
$A\beta_{1-40}$, без агрегации	Крысы <i>Sprague-Dawley</i>	ДВ	1×	Не выявлено нарушений пространственной памяти в T-образном лабиринте с пищевым подкреплением	Активация микроглии и гибель нейронов в поле CA1	[43]
$A\beta_{1-40}$, агрегация + иботеновая кислота	Крысы <i>Wistar</i>	ФР	1×	Нарушения долговременной пространственной памяти в лабиринте Морриса, устраняемые мемантином	Гибель нейронов (устраняется мемантином)	[50]

Примечание: обозначения те же, что указаны в примечании к табл. 1.

различными нейротоксинами, в частности, иботеновой кислотой, вызывающей глутаматную эксайтотоксичность, холинотоксинами, факторами, вызывающими воспаление. Одновременно происходило развитие методов выявления признаков нейродегенеративных процессов в нервной ткани, позволяющее усовершенствовать модель. В итоге метод индукции симптомов БА введением Аβ-фрагментов в гиппокамп получил достаточно широкое распространение. Как и в случае с интрацеребровентрикулярным введением, после инъекций нейротоксинов в гиппокамп наблюдаются нарушения рабочей памяти, распознавания, долговременной пространственной памяти (табл. 3). При введении в гиппокамп более отчетливо по сравнению с другими моделями проявляется преимущество агрегированных форм Аβ-фрагментов, а также более длинных пептидов. Предсказательная валидность модели подтверждается снижением выраженности когнитивных нарушений и симптомов нейродегенерации при введении мемантина [50].

Аносмия (нарушение обоняния) часто наблюдается при БА [46]. Удаление обонятельных луковиц у грызунов в течение долгого времени применялось для исследования эмоциональных процессов, в частности, агрессии [59]. Наблюдения за поведением бульбэктомизированных животных выявили у них нарушения когнитивных функций, гибель холинергических нейронов и повышение уровня Аβ в мозге [1, 2, 16]. У них также нарушается долговременная потенциация в гиппокампе, являющаяся электрофизиологическим маркером синаптической пластичности [44]. Донепезил [65], а также мемантин [17], оказывают протективное действие на наблюдаемые симптомы, что свидетельствует о предсказательной валидности данной модели.

Оценка психотических симптомов болезни Альцгеймера у лабораторных грызунов

В целом необходимо отметить, что дифференциация начальных стадий БА от умеренных когнитивных нарушений представляет значительную проблему для психиатров и неврологов. В экспериментах на грызунах к настоящему времени разрешение этого вопроса практически невозможно. Одним из подходов может быть оценка психотических симптомов, которые наблюдаются у пациентов с БА. Показано, что одним из потенциальных диагностических признаков является предстимульное торможение акустической стартл-реакции – показатель фильтрации сенсорной информации, который нарушен уже на ранних стадиях БА и сохранен у пациентов с умеренными когнитивными нарушениями [63]. Модель предстимульного тормо-

жения воспроизводима у лабораторных животных и может быть использована для оценки моделей БА. Использование теста предстимульной модификации стартл-реакции может являться полезным инструментом для выбора наиболее адекватной модели. Это предположение также относится к моделям с использованием приматов [36]. С возрастом у многих представителей этого отряда появляются отложения Аβ, что зачастую сопровождается когнитивными нарушениями. Некоторые исследователи рассматривают старых особей приматов с отложениями Аβ в качестве естественной модели БА. Применение оценки показателей фильтрации сенсорной информации может оказаться полезным для верификации наличной валидности этой модели.

Однако в единственном исследовании, проведенном с использованием этого теста, при введении Аβ-фрагмента в желудочки мозга крыс нарушений выявлено не было [48]. Вместе с тем при нарушении функций базального ганглиального ядра снижение предстимульного торможения у крыс было показано в работах М. Ballmaier и соавт. [14, 15]. В предварительных исследованиях нами также было выявлено нарушение фильтрации сенсорной информации при введении Аβ-фрагмента в базальное ганглиальное ядро и восстановление показателей этого теста после введения дихолина сукцината, который, как обнаружено ранее [60], восстанавливает когнитивные функции и активность холинергической системы в коре больших полушарий. Таким образом, на основании имеющихся данных, наибольшей наличной валидностью характеризуется модель введения Аβ-фрагментов в базальное ганглиальное ядро.

Заключение

БА является одной из наиболее распространенных форм деменции, однако фармакологическими методами лечения до настоящего времени не удалось предотвратить прогрессирование заболевания, поэтому усилия ученых направлены на разработку и внедрение адекватных моделей, позволяющих исследовать и влиять на разные стадии патогенеза БА (особенно ранние) терапевтическими агентами. В настоящее время перспективной экспериментальной моделью БА, имеющей наибольшую валидность, является *in vivo* модель, основанная на введении Аβ-фрагментов в базальные ганглиальные ядра и позволяющая оценить широкий спектр поведенческих, биохимических и генетических критериев БА.

Список литературы

1. Александрова И.Ю., Кувичкин В.В., Кашипаров И.А. и др. Повышенный уровень бета-амилоида в мозге у бульбэктомизированных мышей. Биохимия. 2004. 69 (2): 218–224.
2. Бобкова Н.В., Нестерова И.В., Нестеров В.И. Состояние холинергических структур переднего мозга у бульбэктомизированных мышей. Бюлл. экспер. биол. 2001; 131 (5): 507–511.
3. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. В.П. Фесенко. – М.: Ремедиум, 2000: 153–158.

4. Горбатов В.Ю., Трекова Н.А., Фомина В.Г., Давыдова Т.В. Антиамнестическое действие антител к глутамату при экспериментальной болезни Альцгеймера. Бюлл. экспер. биол. 2010; 150 (1): 28–30.
5. Колобов В.В., Давыдова Т.В., Фомина В.Г. Защитное действие антител к глутамату на повышенную экспрессию генов программируемой гибели клеток головного мозга крыс, вызванной введением бета-амилоидного фрагмента (25–35). Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2014; 2: 133–141.
6. Колобов В.В., Давыдова Т.В., Захарова И.А. и др. Репрессирующее влияние антител к глутамату на экспрессию гена *Dffb* в мозге крыс при экспериментальной болезни Альцгеймера. Молекуляр. биология. 2012; 46 (5): 757–765.

7. Колобов В.В., Фомина В.Г., Горбатов В.Ю., Давыдова Т.В. Сравнительный анализ эффектов антител к глутамату на нейрональную активность каспазы-3 и нарушения памяти у крыс, вызванные введением Аβ₂₅₋₃₅ в ядра Мейнерта. Патол. физиология и эксперим. терапия. 2013; 1: 27–32.
8. Колобов В.В., Фомина В.Г., Давыдова Т.В. Антитела к глутамату снижают нейротоксические эффекты Аβ₂₅₋₃₅ в транскриптоме клеток префронтальной коры головного мозга. Доклады Академии наук. 2012; 447 (3): 335–337.
9. Островская Р.У., Бельник А.П., Сторожева З.И. Эффективность препарата “Ноопепт” при экспериментальной модели болезни Альцгеймера (когнитивный дефицит, вызванный введением β-амилоида₂₅₋₃₅ в базальные ядра Мейнерта крыс). Бюл. экспер. биол. 2008; 146 (7): 84–88.
10. Степанчев М.Ю., Гуляева Н.В. Инъекционные модели болезни Альцгеймера. Нейродегенеративные заболевания: фундаментальные и прикладные аспекты. Под ред. Угрюмова М.В. М.: Наука, 2010: 364–380.
11. Сторожева З.И., Прошин А.Т., Жохов С.С. и др. Гексапептиды HLDf-6 и PEDF-6 восстанавливают память у крыс при хроническом введении бета-амилоидного пептида А-бета (25-35) в желудочки мозга. Бюл. экспер. биол. 2006; 141 (3): 292–296.
12. Alzoubi K.H., Alhaider I.A., Tran T.T. et al. Impaired neural transmission and synaptic plasticity in superior cervical ganglia from β-amyloid rat model of Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res. 2011; 8 (4): 377–384.
13. Arif M., Kato T. Increased expression of PAD2 after repeated intracerebroventricular infusions of soluble Abeta(25-35) in the Alzheimer's disease model rat brain: effect of memantine. Cell. Mol. Biol. Lett. 2009; 14 (4): 703–714.
14. Ballmaier M., Casamenti F., Scali C. et al. Rivastigmine antagonizes deficits in prepulse inhibition induced by selective immunolesioning of cholinergic neurons in nucleus basalis magnocellularis. Neuroscience. 2002; 114 (1): 91–98.
15. Ballmaier M., Casamenti F., Zoli M. et al. Selective immunolesioning of cholinergic neurons in nucleus basalis magnocellularis impairs prepulse inhibition of acoustic startle. Neuroscience. 2001; 108 (2): 299–305.
16. Bobkova N.V., Nesterova I.V., Dana R. et al. Morphofunctional changes in neurons in the temporal cortex of the brain in relation to spatial memory in bulbectomized mice after treatment with mineral ascorbates. Neurosci. Behav. Physiol. 2004; 34 (7): 671–676.
17. Borre Y., Bosman E., Lemstra S. et al. Memantine partly rescues behavioral and cognitive deficits in an animal model of neurodegeneration. Neuropharmacology. 2012; 62 (5–6): 2010–2017.
18. Bures J., Buresova O., Huston J.P. Techniques and basic experiments for the study of brain behavior. Amsterdam: Elsevier, 1987.
19. Casamenti F., Prosperi C., Scali C. et al. Morphological, biochemical and behavioural changes induced by neurotoxic and inflammatory insults to the nucleus basalis. Int. J. Dev. Neurosci. 1998; 16 (7–8): 705–714.
20. Cetin F., Yazihan N., Dincer S., Akbulut G. The effect of intracerebroventricular injection of beta amyloid peptide (1-42) on caspase-3 activity, lipid peroxidation, nitric oxide and NOS expression in young adult and aged rat brain. Turk. Neurosurg. 2013; 23 (2): 144–150.
21. Christensen R., Marcussen A.B., Wörtwein G. et al. Abeta(1–42) injection causes memory impairment, lowered cortical and serum BDNF levels, and decreased hippocampal 5 HT(2A) levels. Exp. Neurol. 2008; 210 (1): 164–171.
22. Cummings J.L., Back C. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. Am. J. Geriatr. Psychiatry. 1998; 6 (2, Suppl. 1): 64–78.
23. Ding J., Xi Y.D., Zhang D.D. et al. Soybean isoflavone ameliorates β-amyloid 1-42-induced learning and memory deficit in rats by protecting synaptic structure and function. Synapse. 2013; 67 (12): 856–864.
24. Fluhrer R., Haass Ch. Intramembrane proteolysis by γ-secretase and signal peptide peptidases. Intracellular traffic and neurodegenerative disorders. Eds. George-Hyslop P.H.St., Mobley W.C., Christen Y. Berlin: Springer, 2009: 11–26.
25. Freir D.B., Holscher C., Herron C.E. Blockade of long-term potentiation by beta-amyloid peptides in the CA1 region of the rat hippocampus in vivo. J. Neurophysiol. 2001; 85 (2): 708–713.
26. Ganguly R., Guha D. Alteration of brain monoamines & EEG wave pattern in rat model of Alzheimer's disease & protection by Moringa oleifera. Indian. J. Med. Res. 2008; 128 (6): 744–751.
27. Gengler S., Gault V.A., Harriott P., Hölscher C. Impairments of hippocampal synaptic plasticity induced by aggregated beta-amyloid (25-35) are dependent on stimulation-protocol and genetic background. Exp Brain Res. 2007; 179 (4): 621–630.
28. Giovannelli L., Casamenti F., Scali C. et al. Differential effects of amyloid peptides beta-(1-40) and beta-(25-35) injections into the rat nucleus basalis. Neurosci. 1995; 66 (4): 781–792.
29. Giovannini M.G., Scali C., Prosperi C. et al. Beta-amyloid-induced inflammation and cholinergic hypofunction in the rat brain in vivo: involvement of the p38MAPK pathway. Neurobiol Dis. 2002; 11 (2): 257–274.
30. Gritti I., Mainville L., Mancina M., Jones B.E. GABAergic and other noncholinergic basal forebrain neurons, together with cholinergic neurons, project to the mesocortex and isocortex in the rat. J. Comp. Neurol. 1997; 383 (2): 163–177.
31. Guo L.L., Guan Z.Z., Huang Y. et al. The neurotoxicity of β-amyloid peptide toward rat brain is associated with enhanced oxidative stress, inflammation and apoptosis, all of which can be attenuated by scutellarin. Exp Toxicol Pathol. 2013; 65 (5): 579–584.
32. Haring J.H., Wang R.Y. The identification of some sources of afferent input to the rat nucleus basalis magnocellularis by retrograde transport of horseradish peroxidase. Brain Res. 1986; 366 (1–2): 152–158.
33. Harkany T., Abrahám I., Timmerman W. et al. Beta amyloid neurotoxicity is mediated by a glutamate-triggered excitotoxic cascade in rat nucleus basalis. Eur. J. Neurosci. 2000; 12 (8): 2735–2745.
34. Harkany T., Mulder J., Sasvári M. et al. N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 and radical scavengers protect cholinergic nucleus basalis neurons against beta-amyloid neurotoxicity. Neurobiol. Dis. 1999; 6 (2): 109–121.
35. Harkany T., O'Mahony S., Kelly J.P. et al. Beta-amyloid (Phe(SO₃H)₂₄)₂₅₋₃₅ in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation. Behav. Brain Res. 1998; 90 (2): 133–145.
36. Heuer E., Rosen R.F., Cintron A., Walker L.C. Nonhuman primate models of Alzheimer-like cerebral proteopathy. Curr. Pharm. Des. 2012; 18 (8): 1159–1169.
37. Hiramatsu M., Inoue K., Kameyama T. Dynorphin A-(1-13) and (2-13) improve beta-amyloid peptide-induced amnesia in mice. Neuroreport. 2000; 11 (3): 431–435.
38. Hruska Z., Dohanich G.P. The effects of chronic estradiol treatment on working memory deficits induced by combined infusion of beta-amyloid (1-42) and ibotenic acid. Horm Behav. 2007; 52 (3): 297–306.
39. Kubo T., Nishimura S., Kumagai Y., Kaneko I. In vivo conversion of racemized β-amyloid ([D Ser²⁶]Aβ₁₋₄₀) to truncated and toxic fragments ([D Ser²⁶]Aβ_{25-35/40}) and fragment presence in the brains of Alzheimer's patients. J. Neurosci. Res. 2002; 70 (3): 474–483.
40. Li Y., Qin H.Q., Chen Q.S., Wang J.J. Behavioral and neurochemical effects of the intrahippocampal co-injection of beta-amyloid protein 1-40 and ibotenic acid in rats. Int. J. Neurosci. 2004; 114 (12): 1521–1531.
41. Matsumoto Y., Watanabe S., Suh Y.H., Yamamoto T. Effects of intrahippocampal CT105, a carboxyl terminal fragment of beta-amyloid precursor protein, alone/with inflammatory cytokines on working memory in rats. J. Neurochem. 2002; 82 (2): 234–239.
42. Mesulam M.M., Mufson E.J., Wainer B.H., Levey A.I. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). Neurosci. 1983; 10 (4): 1185–1201.
43. Miguel-Hidalgo J.J., Alvarez X.A., Cacabelos R., Quack G. Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by beta-amyloid (1-40). Brain Res. 2002; 958 (1): 210–221.
44. Moriguchi S., Han F., Nakagawasai O. et al. Decreased calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C activities mediate impairment of hippocampal long-term potentiation in the olfactory bulbectomized mice. Neurochem. 2006; 97 (1): 22–29.
45. Morimoto K., Yoshimi K., Tonohiro T. et al. Co-injection of beta-amyloid with ibotenic acid induces synergistic loss of rat hippocampal neurons. Neurosci. 1998; 84 (2): 479–487.

46. *Murphy C.* Loss of olfactory function in dementing disease. *Physiology & Behavior* 1999; 66: 177–182.
47. *Nag S., Tang F., Yee B.K.* Chronic intracerebroventricular exposure to beta-amyloid (1-40) impairs object recognition but does not affect spontaneous locomotor activity or sensorimotor gating in the rat. *Exp. Brain Res.* 2001; 136 (1): 93–100.
48. *Nag S., Yee B.K., Tang F.* Reduction in somatostatin and substance P levels and choline acetyltransferase activity in the cortex and hippocampus of the rat after chronic intracerebroventricular infusion of beta-amyloid (1–40). *Brain Res. Bull.* 1999; 50 (4): 251–262.
49. *Nakamura S., Murayama N., Noshita T. et al.* Progressive brain dysfunction following intracerebroventricular infusion of beta(1-42)-amyloid peptide. *Brain Res.* 2001; 912 (2): 128–136.
50. *Nakamura S., Murayama N., Noshita T. et al.* Cognitive dysfunction induced by sequential injection of amyloid-beta and ibotenate into the bilateral hippocampus; protection by memantine and MK-801. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 548 (1–3): 115–122.
51. *Park S., Kim D.S., Kang S., Moon N.R.* β -Amyloid-induced cognitive dysfunction impairs glucose homeostasis by increasing insulin resistance and decreasing β -cell mass in non-diabetic and diabetic rats. *Metabolism* 2013; <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2013.08.007>
52. *Peña F., Ordaz B., Balleza-Tapia H. et al.* Beta-amyloid protein (25-35) disrupts hippocampal network activity: role of Fyn-kinase. *Hippocampus.* 2010; 20 (1): 78–96.
53. *Pike C.J., Walencewicz-Wasserman A.J., Kosmoski J. et al.* Structure-activity analyses of beta-amyloid peptides: contributions of the beta 25–35 region to aggregation and neurotoxicity. *J. Neurochem.* 1995; 64 (1): 253–265.
54. *Schindler H., Rush D.K., Fielding S.* Nootropic drugs: animal models for studying effects on cognition. *Drug Rev. Res.* 1984; 4 (5): 567–576.
55. *Souza L.C., Filho C.B., Goes A.T. et al.* Neuroprotective effect of physical exercise in a mouse model of Alzheimer's disease induced by β -amyloid₁₋₄₀ peptide. *Neurotox. Res.* 2013; 24 (2): 148–163.
56. *Stepanichev M.Y., Moiseeva Y.V., Lazareva N.A. et al.* Single intracerebroventricular administration of amyloid-beta (25-35) peptide induces impairment in short-term rather than long-term memory in rats. *Brain Res. Bull.* 2003; 61 (2): 197–205.
57. *Stepanichev M.Y., Zdobnova I.M., Zarubenko I.I. et al.* Differential effects of tumor necrosis factor-alpha co-administered with amyloid beta-peptide (25–35) on memory function and hippocampal damage in rat. *Behav. Brain Res.* 2006; 175 (1): 352–361.
58. *Stepanichev M.Y., Zdobnova I.M., Zarubenko I.I. et al.* Amyloid-beta (25-35)-induced memory impairments correlate with cell loss in rat hippocampus. *Physiol. Behav.* – 2004; 80 (5): 647–655.
59. *Stock H.S., Hand G.A., Ford K., Wilson M.A.* Changes in defensive behaviors following olfactory bulbectomy in male and female rats. *Brain Res.* 2001; 903 (1–2): 242–246.
60. *Storozheva Z.I., Proshin A.T., Sherstnev V.V. et al.* Dicholine salt of succinic acid, a neuronal insulin sensitizer, ameliorates cognitive deficits in rodent models of normal aging, chronic cerebral hypoperfusion, and beta-amyloid peptide-(25-35)-induced amnesia. *BMC Pharmacol.* 2008; 8: 1. doi: 10.1186/1471-2210-8-1.
61. *Sun M.-K., Alkon D.L.* Impairment of hippocampal heterosynaptic transformation and spatial memory by β -amyloid₂₅₋₃₅. *J. Neurophysiol.* 2002; 87: 2441–2449.
62. *Trabace L., Kendrick K.M., Castrignanò S. et al.* Soluble amyloid beta 1-42 reduces dopamine levels in rat prefrontal cortex: relationship to nitric oxide. *Neuroscience.* 2007; 147 (3): 652–663.
63. *Ueki A., Goto K., Sato N. et al.* Prepulse inhibition of acoustic startle response in mild cognitive impairment and mild dementia of Alzheimer type. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2006; 60 (1): 55–62.
64. *von Linstow-Roloff E., Platt B., Riedel G.* No spatial working memory deficit in beta-amyloid-exposed rats. A longitudinal study. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2002; 26 (5): 955–970.
65. *Yamamoto Y., Shioda N., Han F. et al.* [Donepezil-induced neuroprotection of acetylcholinergic neurons in olfactory bulbectomized mice]. [Article in Japanese] *Yakugaku Zasshi.* 2010; 130 (5): 717–721.
66. *Yang SG, Wang SW, Zhao M. et al.* A peptide binding to the β -site of APP improves spatial memory and attenuates A β burden in Alzheimer's disease transgenic mice. *PLoS One.* 2012; 7 (11): e48540. doi: 10.1371/journal.pone.0048540.

Modern pharmacological models of Alzheimer's disease

V.V. Kolobov, Z.I. Storozheva

Research Center of Neurology Russian Academy of Medical Sciences;
Serbsky National Research Centre for Social and Forensic Psychiatry (Moscow)

Keywords: Alzheimer's disease, experimental models, neurotoxic beta-amyloid fragments.

In vivo experimental models of Alzheimer's disease are powerful tools for studying the mechanisms of pathogenesis and the search for new therapeutic agents. Pharmacological models, based on the injection of neurotoxins (beta-amyloid fragments, cholinotoxins, ibotenic acid) into the brain allow simulation the

cognitive impairment typical for Alzheimer's disease, and yield evaluation the impact of drugs on various indicators (biochemical, genetic, electrophysiological). The most validity was showed for the *in vivo* model of neurotoxic beta-amyloid fragments injection into basal forebrain nuclei.

Контактный адрес: Колобов Виталий Викторович – асп. ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН. 125367 Москва, Волоколамское ш., д. 80. Тел.: +7 (499) 740-80-79; e-mail: f.neurochemistry@gmail.com;

Сторожева З.И. – вед. науч. сотр. лаб. клинической нейрофизиологии ФГБУ «Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского» Минздрава России.