

Оригинальные статьи

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616-092

Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А., Захарова И.А.

Влияние антител к глутамату на активность каспазы-3 в структурах головного мозга мышей с возрастными изменениями памяти

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Цель исследования. Цель исследования – изучение влияния антител к глутамату (АТ-ГЛ) на активность каспазы-3 в структурах гиппокампа и префронтальной коры у мышей C57Bl/6 с возрастными изменениями памяти.

Методика. Эксперименты выполнены на 30 мышах самцах линии C57Bl/6 (средняя масса $31,2 \pm 1,7$ г) в возрасте 12 мес. Животные были разделены на 2 группы. Опытная группа мышей ($n=20$) получала интраназально поочередно в каждую ноздрю растворенные в физиологическом растворе очищенные антитела к глутамату (250 мкг/кг, 4 мкл) в течение 14 сут. Контрольным животным ($n=10$) аналогично в течение 14 сут ежедневно вводили интраназально 4 мкл физиологического раствора. Через 24 ч после завершающего введения растворов у животных обеих групп проводили оценку процессов памяти в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) по стандартной методике. Часть животных декапитировали сразу после окончания поведенческого эксперимента, другую часть через 7 сут после отмены введения АТ-ГЛ. После извлечения мозга при $t - 4$ °С выделяли гиппокамп и префронтальную кору, материал сохраняли при -85 °С. Активность каспазы-3 выявляли, инкубируя при 37 °С аликвоты супернатанта в присутствии инкубационного буфера, содержащего субстрат каспазы-3 – ацетил-асп-глу-вал-асп-р-нитроанилида. Высвобождение в реакционную смесь р-нитроанилина оценивали через 30 мин спектрофотометрически при длине волны 405 нм. Активность каспазы-3 рассчитывали по скорости высвобождения р-нитроанилина в нмоль/мин на 1 мг белка и выражали в процентах, принимая за 100% активность фермента у контрольных животных. Для подтверждения специфичности гидролиза ацетил-асп-глу-вал-асп-р-нитроанилида каспазой-3 опытные пробы дополнительно инкубировали в присутствии ингибитора каспазы-3 Ас-DEVD-CHO. В качестве отрицательных контролей отдельно инкубировали аликвоты супернатантов без добавления субстрата для каспазы.

Результаты. В поведенческих экспериментах выявлено улучшение выработки УРПИ на 15-е сут от начала интраназального введения АТ-ГЛ. В результате проведенного нейрохимического исследования структур головного мозга установлено, что у мышей после 14-суточного интраназального введения наблюдалось увеличение активации каспазы-3 в префронтальной коре, а через 7 сут после отмены антител активность каспазы-3 не отличалась от ее активности в контрольной группе животных. В гиппокампе через 24 ч после 14-суточного введения антител изменений активности каспазы-3 выявлено не было. Однако через 7 сут после отмены введения антител в опытной группе мышей по сравнению с контролем отмечено увеличение активности каспазы-3.

Заключение. Изменения активности каспазы-3 в структурах мозга у стареющих мышей после введения антител к глутамату могут рассматриваться в качестве развития стадийного процесса улучшения функций памяти при старении.

Ключевые слова: память; антитела к глутамату; каспаза-3; префронтальная кора; гиппокамп; мыши; старение

Для цитирования: Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А., Захарова И.А. Влияние антител к глутамату на активность каспазы-3 в структурах головного мозга стареющих мышей с возрастными изменениями памяти. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2022; 66(2): 4-9.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.4-9

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Давыдова Т.В.; сбор и обработка материала – Ветрилэ Л.А., Захарова И.А.; статистическая обработка результатов – Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А.; написание текста – Давыдова Т.В.; редактирование – Ветрилэ Л.А., Захарова И.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

Для корреспонденции: Давыдова Татьяна Викторовна, e-mail: dav-ta@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена по госзаданию.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 11.02.2022

Принята к печати 31.03.2022

Опубликована 27.05.2022

Davydova T.V., Vetrile L.A., Zakharova I.A.

Effect of antibodies to glutamate on caspase-3 activity in brain structures of mice with age-related memory changesResearch Institute of General Pathology and Pathophysiology,
125315, Moscow, 8 Baltiyskaya str.

The aim of the study was to investigate the effect of antibodies to glutamate (AT-GL) on caspase-3 activity in hippocampal and prefrontal cortex structures in C57Bl/6 mice with age-related memory change.

Methods. Experiments were performed on 30 male C57Bl/6 mice (mean weight 31.2 ± 1.7 g) at the age of 12 months. The animals were divided into 2 groups. The experimental group of mice ($n=20$) received purified antibodies to glutamate (250 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4 μl) dissolved in saline intranasally into each nostril for 14 days. Control animals ($n=10$) were similarly injected daily intranasally with 4 μl of physiological solution for 14 days. Twenty-four hours after the final administration of the solutions, animals from both groups were evaluated in the passive avoidance reflex test (PSRT) according to the standard technique. One part of the animals was decapitated immediately after the end of the behavioral experiment, the other part 7 days after withdrawal of AT-GL administration. After brain extraction at -4°C , the hippocampus and prefrontal cortex were isolated, and the material was preserved at -85°C . Caspase-3 activity was detected by incubating aliquots of supernatant at 37°C in the presence of incubation buffer containing the caspase-3 substrate acetyl-asp-glu-val-asp-p-nitroanilide. The release of p-nitroaniline into the reaction mixture was assessed after 30 min spectrophotometrically at 405 nm. The activity of caspase-3 was calculated by the rate of p-nitroaniline release in nmol/min per 1 mg of protein and expressed as a percentage, taking the activity of the enzyme in control animals as 100%. To confirm the specificity of acetyl-asp-glu-val-asp-p-nitroanilide hydrolysis by caspase-3, experimental samples were additionally incubated in the presence of the caspase-3 inhibitor Ac-DEVD-CHO. As negative controls, aliquots of supernatants without added caspase substrate were incubated separately.

Results. Behavioral experiments revealed an improvement in the production of the PSRT on day 15 from the start of intranasal administration of AT-GL. As a result of neurochemical study of the brain structures, an increase in caspase-3 activation in the prefrontal cortex was observed in mice after 14 days of intranasal administration, and 7 days after the abolition of antibodies, the activity of caspase-3 did not differ from its activity in the control group of animals. No changes in caspase-3 activity were detected in the hippocampus 24 h after 14-day antibody injection. However, 7 days after cancellation of antibody injection, an increase in caspase-3 activity was observed in the experimental group of mice compared to the control.

Conclusion. Changes in caspase-3 activity in brain structures in aging mice after administration of antibodies to glutamate can be considered as the development of a staged process of memory function improvement during aging.

Keywords: memory; antibodies to glutamate; caspase-3; prefrontal cortex; hippocampus; mice; aging

For citation: Davydova T.V., Vetrile L.A., Zakharova I.A. Effect of antibodies to glutamate on caspase-3 activity in brain structures of mice with age-related memory changes. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal]* 2022; 66(2): 4-9. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.4-9

Author's contribution: concept and design of the study – Davydova T.V.; collection of material – Vetrile L.A., Zakharova I.A.; statistical data processing – Davydova T.V., Vetrile L.A.; writing of the text – Davydova T.V.; editing of the text – Vetrile L.A., Zakharova I.A. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Tatyana V. Davydova*, Chief Researcher of the Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, e-mail: dav-ta@yandex.ru

Financing. The work was carried out according to the state task.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors:Davydova T.V., <https://orcid.org/0000-0002-3176-1035>Vetrile L.A., <https://orcid.org/0000-0001-9783-4711>Zakharova I.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-4214>

Received 11.02.2022

Accepted 31.03.2022

Published 27.05.2022

Нейроиммунологические подходы в коррекции возрастных когнитивных нарушений представляют несомненный интерес в качестве перспективного направления профилактики и лечения заболеваний, связанных со старением головного мозга. В настоящее время антитела к нейромедиаторам могут выступать как эндо-

генные протективные вещества, участвующие в сано-генетических механизмах при различных нарушениях ЦНС [1]. Ранее на экспериментальных моделях нейродегенеративной патологии головного мозга и при старении у животных были показаны антиамнестические свойства поликлональных моноспецифических анти-

тел к глутамату (АТ-ГЛ). На модели болезни Альцгеймера при введении в ядро Мейнерта мозга половозрелых крыс Вистар нейротоксического фрагмента Ab_{25-35} , вызывающего нарушение выработки условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), однократное интраназальное введение АТ-ГЛ в дозе 250 мкг/кг, снижало выраженность нарушения памяти [2]. Антиамнестическое действие АТ-ГЛ было также показано в экспериментах с амилоидогенными структурами провоспалительного белка S100A9, вовлеченного в амилоидный каскад при болезни Альцгеймера [3]. Показано, что введение АТ-ГЛ совместно с фибриллярными или олигомерными формами белка S100A9 не приводило к нарушению памяти у стареющих животных [4, 5]. Эффект улучшения выработки УРПИ также наблюдался у стареющих мышей C57Bl/6 после 14 дневного интраназального введения АТ-ГЛ в дозе 250 мкг/кг и сохранялся у них в течение 7 дней после отмены антител [6, 7]. При этом в гиппокампе мозга мышей, получавших АТ-ГЛ, было отмечено снижение содержания дофамина и повышение концентрации его метаболитов, но не обнаружено их влияния на обмен нейромедиаторных аминокислот. В префронтальной коре АТ-ГЛ не влияли на обмен нейромедиаторов, вызывая повышение уровня как возбуждающих, так и тормозных аминокислот, не изменяя их соотношения [6]. Через 7 дней после отмены АТ-ГЛ в гиппокампе мозга животных было выявлено повышение содержания дофамина и его метаболитов, а также повышение уровня аспарагиновой кислоты и таурина. В префронтальной коре антитела к глутамату не влияли на обмен нейромедиаторов, вызывая при этом повышение уровня глутамата [7]. Полученные факты свидетельствуют об антиамнестических эффектах АТ-ГЛ при когнитивном дефиците, однако, необходимо отметить, что механизмы действия АТ-ГЛ в настоящее время изучены недостаточно.

В последнее время особое внимание уделяется изучению роли каспазозависимых процессов апоптоза в механизмах развития нейродегенеративной патологии головного мозга, в частности при болезни Альцгеймера. Получены свидетельства, что увеличение активности каспазы-3 — ключевого фермента апоптоза является причиной гибели нейронов и способствует формированию сенильных бляшек при болезни Альцгеймера [8]. В экспериментах на крысах было показано, что нейродегенеративное повреждение мозга, развивающееся при введении нейротоксического фрагмента бета-амилоидного белка Ab_{25-35} в базальные ганглии, вызывает активацию каспазы-3 в префронтальной коре головного мозга и гиппокампе на 3 сутки после повреждения. Ин-

траназальное введение антител к глутамату 300 мкг/кг через час после повреждения приводит к снижению активности фермента в этих структурах у крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера [9].

В связи с этим целью настоящего исследования было изучение влияния АТ-ГЛ на особенности активности каспазы-3 в структурах мозга (гиппокамп, префронтальная кора) у мышей с возрастными изменениями памяти.

Методика

Эксперименты выполнены на 30 мышах самцах линии C57Bl/6 (средняя масса $31,2 \pm 1,7$ г) в возрасте 12 мес. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде и 12-часовом световом режиме. Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами и Директивами Европарламента и Совета европейского союза (2010/63/EU), регламентирующими использование животных в научных целях, а также “Правилами надлежащей лабораторной практики”, утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБНУ “НИИОПП”.

Поликлональные моноспецифические антитела к глутамату (АТ-ГЛ) получали при иммунизации по стандартной схеме самцов кроликов Шиншилла конъюгатом глутамата с белком носителем — бычьим сывороточным альбумином (БСА), синтезированным с помощью глутаральдегида по описанному ранее протоколу [5]. Выделенные антитела очищали с помощью аффинной хроматографии с использованием синтезированного сорбента на основе BcCN-активированной селфарозе-4В и иммобилизованного на ней БСА по стандартной методике. Титр АТ-ГЛ составлял $1:1024 \pm 1:16$.

Мыши C57Bl/6 были разделены на 2 группы. Опытная группа мышей ($n=20$) получала интраназально поочередно в каждую ноздрю растворенные в физиологическом растворе очищенные антитела к глутамату (250 мкг/кг, 4 мкл) в течение 14 сут. Контрольным животным ($n=10$) аналогично интраназально ежедневно вводили 4 мкл физиологического раствора в течение 14 сут. Через 24 ч после завершающего введения растворов у животных обеих групп проводили оценку процессов памяти в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) по методике, описанной ранее [6]. У мышей регистрировали время перехода в темный отсек в первые сутки эксперимента (ЛП₁ с) и на вторые сутки фиксировали время перехода в темную камеру (ЛП₂ с). Период наблюдения за каждым животным составлял 300 с (с момента открытия дверцы в дни

обучения и тестирования). Выраженность степени запоминания животными действия электрошока определяли по разности латентных периодов перехода животного в темную камеру при выработке УРПИ и через 24 ч после обучения в день тестирования (ДЛП, с). По окончании поведенческого эксперимента одну часть животных декапитировали сразу, другую часть – через 7 сут после отмены АТ-ГЛ. После извлечения мозга при $t - 4^{\circ}\text{C}$ выделяли гиппокамп и префронтальную кору, материал сохраняли при $- 85^{\circ}\text{C}$

Структуры головного мозга на холоду при $+4^{\circ}\text{C}$ гомогенизировали в охлажденном лизирующем буфере (рН 8,0) (150 мМ NaCl, 1% ТритонХ-100, 0,5% дезоксихолат натрия, 50мМ Трис, 5мМ дитиотриетол, 2мМ ЭДТА) в соотношении ткань-буфер 1:20 (=10 мг белка на 1 мл супернатанта) на гомогенизаторе Heidolph DIAX 100 (Germany) при 5000 об/мин в течение 15 с. Гомогенат центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 мин на центрифуге Sorval 5B (Du Pont, США) [10]. Супернатант использовали для определения концентрации белка и активности каспазы-3.

Концентрацию белка определяли на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo Scitntific, USA) при длине волны 280 нм.

Активность каспазы-3 выявляли, инкубируя при $+37^{\circ}\text{C}$ аликвоты супернатанта (300 мкг белка) в присутствии 250 мкл инкубационного буфера, содержащего 200 мкМ субстрата каспазы-3 – ацетил-асп-глу-вал-асп-р-нитроанилида (Ac-DEVD-p-nitroanilide) (A-2559, Sigma- Aldrich, USA). Состав буфера для инкубации включал 20мМ HEPES (рН 7,5), 5 мМ дитиотриетол, 2мМ ЭДТА [10]. Высвобождение в реакционную смесь р-нитроанилина оценивали через 30 мин спектрофотометрически на Microplate Reader “ImmunoChem-2100” (США) при длине волны 405 нм. Активность каспазы-3 рассчитывали по скорости высвобождения р-нитроанилина в нмоль/мин на 1 мг белка и выражали в процентах, принимая за 100% активность фермента у контрольных животных. Для подтверждения специфичности гидролиза ацетил-асп-глу-вал-асп-р-нитроанилида каспазой-3 опытные пробы дополнительно инкубировали в присутствии 20 мкМ ингибитора каспазы-3 – Ac-DEVD-CHO (A-0835, Sigma-Aldrich, США). В качестве отрицательных контролей отдельно инкубировали аликвоты супернатантов без добавления субстрата для каспазы.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 (“StatSoft”, США) с использованием однофакторного непараметрического дисперсионного анализа по методу Крускала–Уолли-

са (Н-критерий) с последующим post-hoc анализом по U-критерию Манна–Уитни. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимались равными 0,05.

Результаты и обсуждение

Эффективность воздействия АТ-ГЛ на нарушения памяти оценивали в поведенческом эксперименте. Было показано улучшение выработки УРПИ на 15-е сут от начала интраназального введения антител. Результаты эксперимента представлены на **рис. 1**. Как видно из рисунка степень запоминания у мышей, получавших АТ-ГЛ улучшилась в 2,3 раза, величина ДЛП составила $242,9 \pm 34,3$ с по сравнению с животными контрольной группы, у которых ДЛП составляла $105,8 \pm 67,0$ с ($p < 0,05$).

В нейрохимических исследованиях активность каспазы-3 у опытных и контрольных мышей С57В1/6 в исследованных структурах мозга (префронтальной коре и гиппокампе) выявлялась в следующих диапазонах: 3,1–5,2 и 2,1–3,6 пмоль/мин/мг белка соответственно. Исследование активности каспазы-3 после 14-сут интраназального введения АТ-ГЛ в структурах головного мозга стареющих мышей С57В1/6 выявило разницу между обследованными группами: в префронтальной коре Н ($2N=26$) =8,2; $p < 0,0166$, в гиппокампе Н ($2N=24$) = 6,076; $p < 0,0479$. Результаты межгрупповых различий активности каспазы-3 в префронтальной коре и гиппокампе головного мозга мышей после 14-сут введения АТ-ГЛ и через 7 сут после их отмены представлены на **рис. 2**. Как видно из рисунка у мышей после 14-сут интраназального введения АТ-ГЛ наблюдалось повышение активности каспазы-3 в префронтальной коре головного мозга, а через 7 сут после отмены антител активность каспазы-3 не отличалась от таковой в контрольной группе животных. В гиппокампе после 14 сут введения АТ-ГЛ изменений активности каспазы-3 выявлено не было. Однако через 7 сут после отмены антител в опытной группе мышей отмечалось увеличение активности каспазы-3.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов было показано, что курсовое 14-суточное интраназальное введение АТ-ГЛ стареющим мышам приводит к увеличению активности проапоптозной эффекторной каспазы-3 в префронтальной коре головного мозга. Через 7 суток после отмены антител наблюдали снижение активности каспазы-3 до уровня у контрольных животных, получавших интраназально физиологический раствор. В гиппокампе, напротив, активность каспазы-3 не отличалась от контроля после 14 сут введения АТ-ГЛ, в то время как через 7 сут после отмены антител она существенно возрастала.

Полученные результаты о разнонаправленном влиянии курсового интраназального введения АТ-ГЛ на активность каспазы-3 в структурах головного мозга

(префронтальной коре и гиппокампе), по всей вероятности, следует рассматривать в связи с ее плейотропным действием. Каспаза-3 принимает участие не толь-

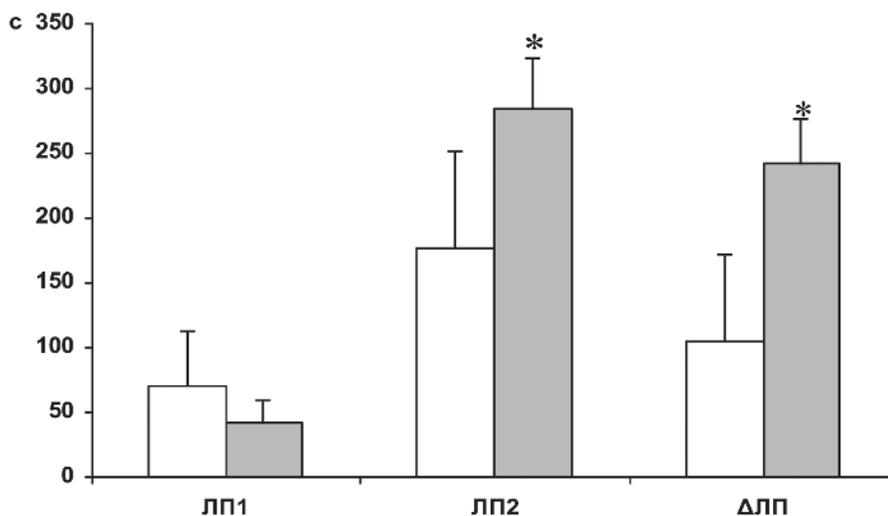


Рис. 1. Антиамнестические эффекты антител к глутамату после 14 сут интраназального введения стареющим мышам C57Bl/6. По горизонтали: светлые столбики – контроль, темные — опыт. ЛП₁ – латентный период 1, ЛП₂ – латентный период 2, ΔЛП=ЛП₂ – ЛП₁. По вертикали – время нахождения в светлом отсеке камеры (с); * $p < 0,05$.

Fig. 1. Antiamnestic effects of antibodies to glutamate after 14 days of intranasal administration to aging C57Bl/6 mice. Horizontally: light columns – control, dark – experience. LP₁ – latent period 1, LP₂ – latent period 2, ΔLP=LP₂ – LP₁; vertically: the time spent in the light compartment of the camera (s); * $p < 0,05$.

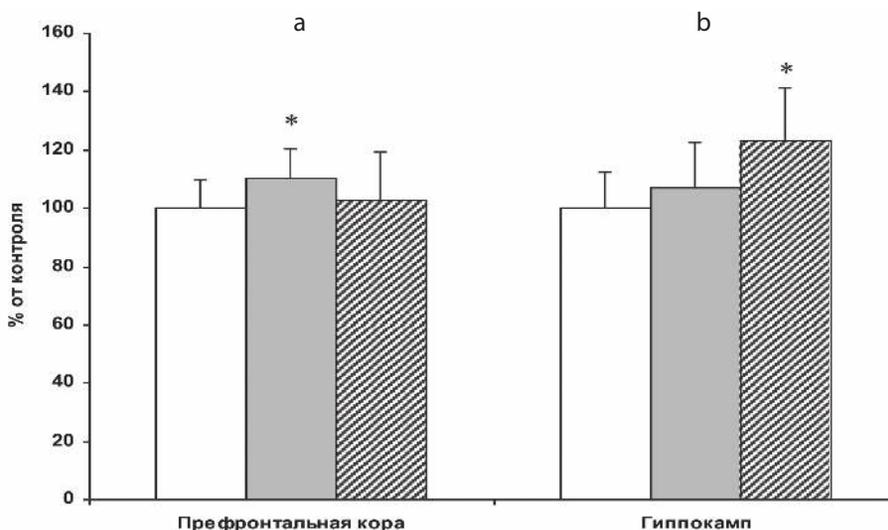


Рис. 2. Влияние антител к глутамату на активность каспазы-3 в префронтальной коре и гиппокампе головного мозга стареющих мышей C57Bl/6. По вертикали: активность каспазы-3 в процентах к контролю. По горизонтали: а – префронтальная кора, б – гиппокамп: светлые столбики – контроль, темные – 14 сут введения интраназально АТ-ГЛ, заштрихованные – через 7 сут после отмены введения антител; * - $p < 0,05$.

Fig. 2. Effect of antibodies to glutamate on caspase-3 activity in the prefrontal cortex and hippocampus of aging C57Bl/6 mice. Vertical: caspase-3 activity as a percentage of control. Horizontally: а – prefrontal cortex, б – hippocampus: light bars – control, dark bars – 14 days of intranasally administered AT-GL, shaded bars – 7 days after withdrawal of antibody administration; * - $p < 0,05$.

ко в обеспечении процессов программируемой гибели нейронов, но и в нейропластичности. Множество эффектов данной цистеиновой протеазы связано с большим количеством расщепляемых ею субстратов [11]. Повышение активности каспазы-3 наблюдается также при снижении эффективности межнейронных воздействий [12]. Взаимосвязь улучшения мнестических функций у стареющих мышей, получавших интраназально АТ-ГЛ, с увеличением активности каспазы-3 через 14 сут после их введения в префронтальной коре и через 7 сут после их отмены в гиппокампе следует, возможно, рассматривать как проявление нейропластических процессов, а не как проявление апоптоза клеток головного мозга.

Литература

1. Евсеев В.А. *Антитела к нейромедиаторам в механизмах нейроиммунопатологии*. М.: 2007, Изд. РАМН.
2. Горбатов В.Ю., Трекова Н.А., Фомина В.Г., Давыдова Т.В. Антиамнестическое действие антител к глутамату при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Бюл. exper. биол. и мед.* 2010; 150(1): 28–30.
4. Грудень М.А., Давыдова Т.В., Фомина В.Г., Ветрилэ Л.А., Морозова-Roche L.A., Sewell R.D.E. Антиамнестические эффекты антител к глутамату при действии фибриллярных структур провоспалительного белка S100A9 у старых мышей линии C57Bl/6. *Бюл. exper. биол. и мед.* 2016; 162(10): 422–5.
5. Грудень М.А., Давыдова Т.В., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Ветрилэ Л.А., Морозова-Roche L.M.A. и др. Нейропротекторные эффекты антител к глутамату при нарушениях памяти, индуцированных олигомерами провоспалительного белка S100A9 у стареющих животных. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(4): 25–32.
9. Колобов В.В., Захарова И.А., Фомина В.Г., Горбатов В.Ю., Давыдова Т.В. Влияние антител к глутамату на активность каспазы-3 в структурах головного мозга крыс с экспериментальной болезнью Альцгеймера. *Бюл. exper. биол. и мед.* 2012; 154(10): 417–20.
10. Шерстнёв В.В., Юрасов В.В., Грудень М.А., Яковлева Н.Е., Сторожева З.И., Прошин А.Т. и др. Биохимические маркеры апоптоза в мозге “интактных” крыс и при центральном действии белка S100b. *Нейрохимия*. 2004; 21(2): 126–30.
11. Яковлев А.А., Гуляева Н.В. Плеiotропные функции протеиназ мозга: методические подходы к исследованию и поиск субстратов каспазы. *Биохимия*. 2011; 76(10): 1325–34.
12. Кудряшова И.В., Онуфриев М.В., Кудряшов И.Е., Гуляева Н.В. Активность каспазы-3 в срезах гиппокампа отражает изменения синаптической пластичности. *Рос. физиол. журн.* 2008; 94(1): 3–14.

Сведения об авторах:

Давыдова Татьяна Викторовна, доктор мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ НИИОПП, e-mail: dav-ta@yandex.ru;

Ветрилэ Лучия Александровна, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ НИИОПП;

Захарова Ирина Александровна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей и перинатальной нейроиммунопатологии ФГБНУ НИИОПП.

References

1. Evseev V.A. *Antibodies to neurotransmitters in the mechanisms of neuroimmunopathology. [Antitela k neyromediatoram v mekhanizmaxh neyroimmunopatologii]*. Moscow; 2007, Izd. RAMN; 2007. (in Russian)
2. Gorbatov V.Yu., Trekova N.A., Fomina V.G., Davydova T.V. Antiamnestic effect of antibodies to glutamate in experimental Alzheimer's disease. *Byul. eksper. Biol.* 2010; 150(1): 28–30. (in Russian)
3. Gruden M.A., Davydova T.V., Wang C., Narkevich V.B., Fomina V.G., Kudrin V.S., et al. The misfolded pro-inflammatory protein S100A9 disrupts memory via neurochemical remodelling instigating an Alzheimer's disease-like cognitive deficit. *Behav. Brain Res.* 2016; (306): 106–16. DOI: 10.1016/j.bbr
4. Gruden M.A., Davydova T.V., Fomina V.G., Vetrila L.A., Morozova-Roche L.A., Sewell R.D.E. Antiamnestic effects of antibodies to glutamate under the action of fibrillar structures of the pro-inflammatory protein S100A9 in old mice of the C57Bl/6. *Bull. expert biol. and med.* 2016; 162(10): 422–5. (in Russian)
5. Gruden M.A., Davydova T.V., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Vetrile L.A., Morozova-Roche L.M.A., et al. Neuroprotective effects of antibodies to glutamate in memory disorders induced by oligomers of the proinflammatory protein S100A9 in aging animals. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61(4): 25–32. (in Russian)
6. Davydova T. V., Gruden M. A., Kudrin V. S., Narkevich V. B., Vetrile L. A., Zakharova I. A., et al. Effect of antibodies to glutamate on age-Related memory changes in C57Bl/6 mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 166(3): 326–9. DOI 10.1007/s10517-019-04343-7
7. Davydova T.V., Gruden M.A., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Vetrile L.A., Zakharova I.A., Sewel R.D.E. Delayed behavioral and neurochemical effects of anti-glutamate antibodies in aging C57BL/6 mice. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2021; 171(1): 19–22.
8. Su J.H., Zhao M., Anderson A.J., Srinivasan A., Cotman C.W. Activated caspase-3 expression in Alzheimer's and aged control brain: correlation with Alzheimer pathology. *Brain Res.* 2001; 898(2): 350–7.
9. Kolobov V.V., Zakharova I.A., Fomina V.G., Gorbatov V.Yu., Davydova T.V. Influence of antibodies to glutamate on the activity of caspase-3 in the brain structures of rats with experimental Alzheimer's disease. *Bull. exper. biol. and med.* 2012; 154(10): 417–20. (in Russian)
10. Sherstnev V.V., Yurasov V.V., Gruden M.A., Yakovleva N.E., Storozheva Z.I., Proshin A.T., Puzyrev A.V. Biochemical markers of apoptosis in the brain of “intact” rats and under the central action of protein S100b. *Neyrokimiya*. 2004; 21(2): 126–30. (in Russian)
11. Yakovlev A.A., Gulyaeva N.V. Pleiotropic functions of brain proteinases: methodological approaches to the study and search for caspase substrates. *Biokhimiya*. 2011; 76(10): 1325–34. (in Russian)
12. Kudryashova I.V., Onufriev M.V., Kudryashov I.E., Gulyaeva N.V. Caspase-3 activity in hippocampal slices reflects changes in synaptic plasticity. *Ros. fiziol. Zhurnal*. 2008; 94(1): 3–14. (in Russian)