

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 615+616.89:571.27

В.В. Колобов<sup>1</sup>, В.Г. Фомина<sup>2</sup>, В.Ю. Горбатов<sup>2</sup>, Т.В. Давыдова<sup>2</sup>

## Сравнение эффектов антител к глутамату на нейрональную активность каспазы-3 и нарушения памяти у крыс, вызванные введением $A\beta_{25-35}$ в ядра Мейнерта

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр неврологии» Российской академии медицинских наук, 125367, Москва, Волоколамское ш., 80

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

В экспериментах на крысах показано, что интраназальное введение антител к глутамату в дозе 300 мкг/кг спустя 1 ч после билатеральной инъекции в ядра Мейнерта нейротоксического фрагмента  $\beta$ -амилоидного белка (25-35) —  $A\beta_{25-35}$  — препятствует развитию нарушений памяти на 3 и 14 сутки наблюдения, выявленные в тесте условного рефлекса пассивного избегания. Антитела к глутамату снижают повышенную активность каспазы-3, выявляемую на 3 сутки после введения  $A\beta_{25-35}$  в образцах префронтальной коры и гиппокампа, но не гипоталамуса. Интраназальное введение  $\gamma$ -глобулина не оказывало влияния на нарушение памяти и активность каспазы-3.

**Ключевые слова:** антитела к глутамату, экспериментальная болезнь Альцгеймера, условный рефлекс пассивного избегания, активность каспазы-3

V.V. Kolobov<sup>1</sup>, V.G. Fomina<sup>2</sup>, V.Yu. Gorbatov<sup>2</sup>, T.V. Davydova<sup>2</sup>

## Comparison of the effects of glutamate antibodies on neuronal activity of caspase 3 and memory impairment in rats induced by injection of $A\beta_{25-35}$ into the Meynert nuclei

<sup>1</sup> Research Center of Neurology RAMS, 80, Volokolamskoye hwy., Moscow, 125367, Russia

<sup>2</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

In experiments on rats showed that intranasal administration of glutamate antibodies in a dose of 300  $\mu$ g/kg after 1 h after bilateral injection of neurotoxic fragment of  $\beta$ -amyloid protein (25-35) —  $A\beta_{25-35}$  — into the Meynert nuclei restores learning ability in the test of passive avoidance on 3 and 14 days of the experiment. Antibodies to glutamate decrease significantly increasing caspase 3 activity, detected on Day 3 after injection of  $A\beta_{25-35}$ , in samples of the prefrontal cortex and hippocampus but not hypothalamus. Intranasal administration of  $\gamma$ -globulin had no effect on the performance of violations of mnemonic functions and caspase 3 activity.

**Key words:** antibodies to glutamate, experimental Alzheimer's disease, passive avoidance, caspase 3 activity

При болезни Альцгеймера (БА), являющейся наиболее частой причиной деменций у людей пожилого возраста, в сыворотке крови обнаруживаются аутоантитела к глутамату, причем в группе пациентов с поздним началом БА концентрация аутоантител к глутамату в 1,5 раза выше, чем в группе пациентов с ранним началом заболевания [2]. Антитела к глутамату (АТ-Глу) привлекают особое внимание при хронических нейродегенеративных повреждениях мозга, в патогенезе которых глутамат играет важную роль [1].

Сенильные бляшки, являющиеся морфологическим исходом накопления агрегированного бета-амилоидного белка ( $A\beta$ ) в тканях головного мозга пациентов с БА, богаты расщепленным каспазой-3 предшественником  $A\beta$  [12]. Получены свидетельства, что увеличение активности каспазы-3 способствует гибели нейронов и формированию сенильных бляшек при БА [18]. При экспериментальной БА в условиях *in vitro* и *in vivo* документирована повышенная экспрессия и активация каспаз [12].

Для изучения механизмов развития БА используется фармакологическая модель, в ходе которой животным вводят состоящий из 11 аминокислотных остатков GSNKGAIGLM нейротоксический фрагмент бета-амиоида (25-35) —  $A\beta_{25-35}$ . Указанный

Для корреспонденции: Колобов Виталий Викторович, асп. ФГБУ «ННЦ» РАМН. E-mail: f.neurochemistry@gmail.com

пептид инициирует усиление глутаматной эксайтотоксичности [13], вызывая нарушение гомеостаза ионов кальция, усиление окислительного стресса, ведущих к энергетическому истощению нервных клеток и развитию их апоптотической гибели [11].

Целью настоящей работы было изучение влияния интраназального введения АТ-Глу на нарушения памяти и активность каспазы-3 в структурах головного мозга крыс на 3 и 14 сутки после введения  $A\beta_{25-35}$  в базальные ядра Мейнерта.

### Методика

Опыты были проведены на 120 крысах-самцах Wistar (280—310 г), выращенных в виварии ФГБУ «НИИОПП» РАН. Животных содержали в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде и 12-часовом световом режиме. Содержание и экспериментальные процедуры проводили в соответствии с правилами Совета Европейского сообщества (Директива 2010/63/EU от 22.09.2010 г.).

На каждую временную точку (третьи и 14-е сутки) параллельно проведено 2 серии экспериментов: биохимическая и поведенческая. В каждой серии крысы были разделены на 5 групп (по 6 животных в каждой):

- 1 — интактные (И);
- 2 — ложнопериорированные (ЛО);
- 3 — крысы с введением  $A\beta_{25-35}$ , которым через 1 ч после операции вводили интраназально по 10 мкл дистиллированной воды ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ );
- 4 — животные, которым по той же схеме интраназально вводили водный раствор АТ-Глу в дозе 300 мкг/кг ( $A\beta_{25-35} + АТ-Глу$ );
- 5 — животные, которым по той же схеме интраназально вводили водный раствор  $\gamma$ -глобулина от интактных кроликов в дозе 300 мкг/кг ( $A\beta_{25-35} + \gamma$ -глобулин).

АТ-Глу получали из сыворотки крови кроликов породы шиншилла, иммунизированных конъюгатом глутамата с бычьим сывороточным альбумином, синтезированным с помощью глутарового альдегида [17]. АТ-Глу в сыворотках крови иммунизированных кроликов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием в качестве тест-антигена конъюгат глутамата с гетерологичным белковым носителем (с  $\gamma$ -глобулином лошади), который синтезировали по той же методике. Титр антител в сыворотке крови иммунизированных кроликов составил 1:1024. Антитела в виде  $\gamma$ -глобулиновой фракции выделяли из сыворотки крови иммунизированных кроликов методом переосаждения сульфатом аммония и очищали диализом. Выделенные АТ-Глу лиофилизировали и хранили при 4°C.

В базальные ядра Мейнерта (координаты: АР -1,4; ОL 2,7; Н 8,7) вводили 2 мкл водного раствора 0,4 нмоль  $A\beta_{25-35}$ . В качестве наркоза применяли хлоралгидрат в дозировке 300 мг/кг внутривентрикулярно [14]. Ложнопериорированным животным в том же объеме вводился физиологический раствор (0,9% раствор NaCl).

На третьи и 14-е сутки после операции у животных в поведенческой серии вырабатывали УРПИ. Камера для УРПИ состояла из освещенного и темного отсеков (каждый размером 25×40×25 см), разделенных дверцей [10]. Для выработки УРПИ крысу помещали в освещенный отсек хвостом к закрытой дверце на 120 с для ознакомления с обстановкой. Затем дверцу открывали, и животное, в силу врожденного норкового рефлекса, переходило в темную часть камеры (регистрировали время этого перехода — латентный период 1, ЛП<sub>1</sub>); максимальное время наблюдения после открытия дверцы составляло 180 с. Сразу после захода в темный отсек дверцу закрывали и через металлические прутья пола камеры наносили животному электрокожное раздражение (0,8 мА, 3 с).

Через 24 часа тестировали сохранность выработанного навыка. Для этого крысу помещали в освещенный отсек при открытой дверце и фиксировали время перехода животного в темную камеру (латентный период 2, ЛП<sub>2</sub>); максимальное время наблюдения после помещения крысы в освещенный отсек составляло 180 с. Формирование долговременных ассоциативных связей между переходом в темный отсек и отрицательным подкреплением оценивали по разности латентных периодов перехода в темную камеру в день выработки УРПИ и в день тестирования (ΔЛП). Кроме того, в каждой группе определяли относительное количество животных, демонстрировавших максимально возможный уровень выполнения навыка, то есть не совершивших переход в темный отсек в течение 180 с после помещения в камеру в день тестирования.

На третьи и 14-е сутки после операции у животных биохимической серии выделяли на холоду образцы префронтальной коры, гипоталамуса и гиппокампа, а затем гомогенизировали в 750 мкл охлажденного лизирующего буфера (150 мМ NaCl, 1% Тритон X-100, 0,5% дезоксихолат натрия, 50 мМ Трис, 5 мМ дитиотреитол, 2 мМ ЭДТА; рН 8.0) на гомогенизаторе «DIAH 100» при 5000 об./мин в течение 15 с. Гомогенат центрифугировали при 4°C при 10 000 g в течение 15 мин [8].

Концентрацию белка в супернатантах определяли колориметрически при 600 нм с применением пирогаллолового красного («А/О Юнимед», Россия). Активность каспазы-3 выявляли, инкубируя при 37°C аликвоты су-

пернатанта (300 мкг белка) в присутствии 250 мкл инкубирующего буфера, содержащего 200 мкМ субстрата каспазы-3 — ацетил-Asp-Glu-Val-Asp-п-нитроанилида (Ac-DEVD-p-nitroanilide) (A-2559, «Sigma-Aldrich», США). Состав буфера для инкубации включал 20 мМ НЕРЕС (рН 7,5), 5 мМ дитиотреитол, 2 мМ ЭДТА [8]. Высвобождение в реакционную смесь п-нитроанилина оценивали через 30 мин спектрофотометрически при 405 нм на Microplate Reader «ImmunoChem-2100» («High Technology Inc.», США). Активность каспазы-3 рассчитывали по скорости высвобождения п-нитроанилина в пмоль/мин на 1 мг белка по формуле:

$$E = (A_{405} \times d) / (\varepsilon \times t \times m),$$

где:

$A_{405}$  — оптическая плотность при  $\lambda=405$  нм;

$d$  — коэффициент разведения, равный для каждого образца  $(V_{\text{аликвоты}} + 250) / 250$ , поскольку в каждую лунку планшета ридера помещали только 250 мкл образца;

$\varepsilon$  — молярный коэффициент экстинкции п-нитроанилина (10500);

$t$  — время измерения (30 мин);

$m$  — масса аликвоты белка (0,3 мг).

Для подтверждения специфичности гидролиза ацетил-Asp-Glu-Val-Asp-п-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-3.

Для статистической обработки экспериментальных данных применяли  $H$ -критерий Крускала—Уоллиса с последующим *post-hoc* анализом по  $U$ -критерию Манна-Уитни, являющихся однофакторными

критериями непараметрической статистики, поскольку показатели каждой из выборок не соответствуют закону нормального распределения (установлено по  $W$ -критерию Шапиро—Уилка для малых выборок,  $p < 0,05$ ). Для оценки достоверности различий дихотомически распределенной дискретной величины — число животных, показавших максимально возможный уровень выполнения УРПИ — использован критерий  $\chi^2$  ( $p < 0,025$ ). Парное сравнение показателей латентных периодов захода в темную камеру при УРПИ в двух связанных выборках (в пределах одного временного срока) проводили с использованием парного непараметрического  $T$ -критерия Вилкоксона ( $p < 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

В поведенческой серии экспериментов через 24 ч после нанесения отрицательного подкрепления (в 3 сут.) латентный период захода в темный отсек у животных групп (И), (ЛО) и ( $A\beta_{25-35}$  + АТ-Глу) возрастал в 72 раза, тогда как у группы ( $A\beta_{25-35}$  +  $\gamma$ -глобулин) — всего лишь в 1,5 раза, а у группы ( $A\beta_{25-35}$  +  $H_2O$ ) не наблюдалось существенных изменений этого параметра, отражающего степень закрепления УРПИ (по сравнению с показателями в день обучения). Подобная тенденция изменений ЛП<sub>2</sub> наблюдалась и в следующей временной точке (14 сут.): латентный период захода в темный отсек у крыс групп (И), (ЛО) и ( $A\beta_{25-35}$  + АТ-Глу) возрастал в 27,7, 17,1, и 27,7 раза соответственно, в то время как у группы ( $A\beta_{25-35}$  +  $\gamma$ -глобулин) — возрастал только в 2,4 раза, а у группы ( $A\beta_{25-35}$  +  $H_2O$ ) оставался без изменений (по сравнению с показателями в день обучения; таблица).

При выработке УРПИ в контроле процент животных, не перешедших в темный отсек в течение

Таблица

Антиамнестические эффекты АТ-Глу на третьи и 14-е сутки экспериментальной БА (медиана  $\pm$  25трети75% квантили)

Группа крыс	Временные характеристики УРПИ, с					
	ЛП <sub>1</sub>		ЛП <sub>2</sub>		ΔЛП	
	3 сутки N=2,62 (p=0,623)	14-е сутки N=3,39 (p=0,494)	3 сутки N=13,16 (p=0,01)	14-е сутки N=16,74 (p=0,002)	3 сутки N=14,67 (p=0,005)	14-е сутки N=14,64 (p=0,005)
(И)	2,5 (2; 3)	6,5 <sup>##</sup> (5; 9)	180 <sup>Δ</sup> (150; 180)	180 <sup>Δ</sup> (180; 180)	177 (137; 178)	171,5 (169; 175)
(ЛО)	2,5 (1; 10)	10,5 <sup>##</sup> (4; 12)	180 <sup>Δ</sup> (164; 180)	180 <sup>Δ</sup> (175; 180)	173,5 (163; 178)	168,5 (165; 176)
( $A\beta_{25-35}$ + $H_2O$ )	8,5 (2; 12)	9,5 (7; 15)	8 <sup>**</sup> , <sup>∞</sup> (2; 43)	9,5 <sup>**</sup> , <sup>∞</sup> (7; 22)	6*, <sup>∞</sup> (-8; 31)	1*, <sup>∞</sup> (0; 10)
( $A\beta_{25-35}$ + АТ-Глу)	2,5 (1; 5)	6,5 (4; 8)	180 <sup>Δ</sup> (180; 180)	180 <sup>Δ</sup> (180; 180)	176 (168; 179)	172,5 (170; 174)
( $A\beta_{25-35}$ + $\gamma$ -глобулин)	15 (1; 32)	6 (5; 7)	20,5 <sup>**</sup> , <sup>∞</sup> (3; 180)	14,5 <sup>**</sup> , <sup>∞</sup> (10; 30)	19,5 <sup>**</sup> , <sup>∞</sup> (-20; 148)	9 <sup>**</sup> , <sup>∞</sup> (5; 9)

Примечание. ЛП<sub>1</sub> — латентный период в день выработки УРПИ; ЛП<sub>2</sub> — латентный период через 24 ч после выработки УРПИ; ΔЛП — разность значений латентных периодов в день тестирования и день выработки УРПИ. В графах с указанием временной точки приведены значения  $H$ -критерия Крускала—Уоллиса и вероятности ошибки. *Post-hoc* анализ достоверен здесь и на рис. 3 при: \*  $p < 0,01$ , \*\*  $p < 0,05$  при сравнении с интактным контролем; <sup>∞</sup>  $p < 0,01$ , <sup>∞</sup>  $p < 0,05$  при сравнении с группой ( $A\beta_{25-35}$  + АТ-Глу); #  $p < 0,01$ , ##  $p < 0,05$  при сравнении с 3-ми сутками —  $U$ -критерий Манна—Уитни; <sup>Δ</sup>  $p < 0,05$  при сравнении ЛП<sub>2</sub> с ЛП<sub>1</sub> —  $T$ -критерий Вилкоксона.

180 с, т.е. демонстрировавших максимально возможный уровень выполнения навыка, составило по 83,3% крыс на третьей и 14-е сут., в то время как у опытных крыс с введением  $A\beta_{25-35}$  — только по 16,7% животных ( $p < 0,025$ ).

В биохимической серии на третьи сутки после начала эксперимента активность каспазы-3 достоверно увеличивалась в группе крыс ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ ) в префронтальной коре в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ), а в гиппокампе — в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) при сравнении с группой (И). В свою очередь, интраназально введенные АТ-Глу на фоне экспериментальной БА снижали повышенные показатели активности каспазы-3 ( $p < 0,01$ ): в префронтальной коре — в 1,5 раза, а в гиппокампе — в 1,8 раза (по сравнению с группой ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ )).

В гипоталамусе отличий между экспериментальными группами не обнаружено. Тем не менее, следует отметить, что показатели активности каспазы-3 в

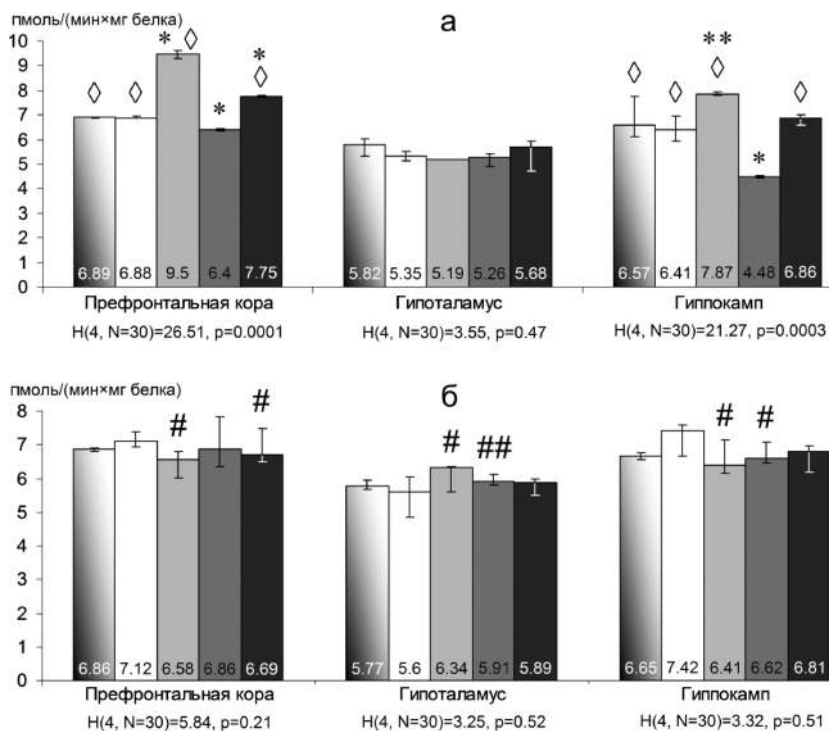
группах (И), (ЛО), ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ ) и ( $A\beta_{25-35} + \gamma$ -глобулин) в этой структуре головного мозга были ниже, чем в префронтальной коре и гиппокампе (рисунок).

На 14-е сут. изменений в активности каспазы-3 во всех исследованных структурах выявлено не было. Однако в группе ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ ) в образцах префронтальной коры и гиппокампа отмечается достоверное снижение повышенных на третьи сут. показателей активности каспазы-3.

В аликвотах образцов, к которым добавляли ингибитор каспазы-3, и в отрицательных контролях активности каспазы-3 выявлено не было.

Интраназальное введение  $\gamma$ -глобулина не оказывало влияния на активность каспазы-3 в исследуемых областях головного мозга крыс после интоксикации  $A\beta_{25-35}$  (рисунок).

Известно, что  $A\beta$  способен блокировать синаптическую передачу, изменять гиппокампальную долго-



Влияние интраназального введения АТ-Глу на активность каспазы-3 в структурах головного мозга крыс экспериментальной БА (медиана  $\pm$  25%–75% квантили):

а) на третьи сутки; б) на 14-е сутки (б).

По оси абсцисс столбцами обозначены группы крыс:

столбцы с градиентом — (И);

белые столбцы — (ЛО);

светло-серые столбцы — ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ );

серые столбцы — ( $A\beta_{25-35} + \text{АТ-Глу}$ );

темно-серые столбцы — ( $A\beta_{25-35} + \gamma$ -глобулин).

Под осью абсцисс представлены значения Н-критерия Крускала—Уоллиса для активности каспазы-3 для каждой из структур мозга с указанием вероятности ошибки.

По оси ординат указана активность каспазы-3 в пмоль/(мин  $\times$  мг белка) п-нитроанилина; внутри столбцов приведены значения медиан для соответствующей группы.

временную потенциацию и запускать нейрональную гибель [19]. На третьей и 14-е сут. после введения в мозг  $A\beta_{25-35}$  у крыс развивались значительные нарушения долговременной памяти, выражающиеся в снижении абсолютных значений латентного времени перехода в темную камеру при воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения ( $LP_2$ ), а также в уменьшении показателя его возрастания в день тестирования относительно дня обучения ( $\Delta LP$ ) по сравнению со значениями, полученными у интактного контроля (таблица).

Таким образом, введение  $A\beta_{25-35}$  вызывает амнестический эффект, нарушая формирование и/или хранение долговременной памяти. Анализ динамики выполнения УРПИ крысами, получавшими интраназально АТ-Глу через час после инъекций  $A\beta_{25-35}$ , выявил, что на третьей и 14-е сут. эксперимента показатели долговременной памяти у них не отличались от контрольного уровня. Интраназальное введение  $\gamma$ -глобулина крысам через час после введения  $A\beta_{25-35}$  не оказало влияния на уровень воспроизведения навыка: при тестировании максимальный уровень выполнения навыка в этой группе составил 33,3 и 16,7% случаев на третьей и 14-е сутки соответственно (таблица).

На третьей сут. в префронтальной коре и гиппокампе нами обнаружено повышение активности каспазы-3 после введения  $A\beta_{25-35}$ . Имеющиеся в литературе данные подтверждают наблюдаемую в гиппокампе картину [6]. К 14-м сут. эксперимента активность каспазы-3 в группе ( $A\beta_{25-35} + H_2O$ ) в префронтальной коре и гиппокампе возвращается к значениям интактного контроля и даже снижается при сравнении с третьими сутками. Это можно объяснить либо запуском каспазо-независимого пути программируемой гибели клеток префронтальной коры и гиппокампа к 14-м сут. наблюдения, либо плейотропным действием каспазы-3, принимающей участие не только в обеспечении процессов программируемой гибели, но и в нейропластичности. Множество эффектов данной цистеиновой протеазы связано с большим количеством расщепляемых ею субстратов [9].

АТ-Глу снижали повышенную на третьей сутки активность каспазы-3 в префронтальной коре и гиппокампе, однако не блокировали ее полностью, что, вероятно, можно рассматривать как дополнительный положительный эффект указанных антител, поскольку ингибирование каспазы-3 приводит к нарушению длительной потенциации, выявленной ранее на срезах гиппокампа [4]. Также известно, что при введении АТ-Глу здоровым крысам они не оказывают влияния на амнестические функции [1].

В наших экспериментах установлено, что активность каспазы-3 в гипоталамусе среди групп живот-

ных не изменяется как на третьей, так и на 14-е сутки эксперимента. Отсутствие эффектов в гипоталамусе можно объяснить отсутствием эфферентных проекций, идущих к нему от ядер Мейнерта [15].

Гиперактивация ионотропных глутаматных NMDA-рецепторов при БА, а не возрастание количества глутамата является существенной особенностью хронических нейродегенеративных процессов [11]. Вероятно, АТ-Глу способны воздействовать на ионотропные глутаматные рецепторы. Известно, что при относительно сохранных механизмах, обеспечивающих фазическую активацию NMDA-рецепторов, накопление  $\beta$ -амилоида при БА приводит к развитию их тонической гиперактивации [16]. По-видимому, АТ-Глу могут выступать как антагонисты к NMDA-рецепторам. Имеются свидетельства о нарушении механизмов формирования, консолидации и реконсолидации памяти при введении NMDA-антагонистов, однако в условиях развития патологических процессов, как и при старении, соединения этого класса могут восстанавливать нарушенные когнитивные функции [5, 7]. Известны факты, свидетельствующие о том, что антагонисты NMDA-рецепторов могут оказывать стимулирующее влияние на обучение и память [20].

Недавно показано, что при экспериментальной БА АТ-Глу влияют на транскрипцию: обнаружено репрессирующее влияние на транскрипцию гена  $\beta$ -полипептида фрагментирующего ДНК фактора, который активируется каспазой-3 при апоптозе [3].

Выявленное защитное действие АТ-Глу является дополнительным доказательством вовлечения иммунной системы в поддержание гомеостаза центральной нервной системы. Влияние малоизученного класса соединений — антител к линейным молекулам нейромедиаторов — представляет особый интерес с точки зрения разработки неинвазивных иммунологических подходов в патогенетической терапии хронических нейродегенеративных повреждений головного мозга. Наблюдаемые нами результаты интраназального введения АТ-Глу, вероятно, можно связать с их триггерным (пусковым) защитным эффектом от нейротоксического влияния  $A\beta_{25-35}$  на клетки мозга.

### Список литературы

1. Горбатов В.Ю., Трекова Н.А., Фомина В.Г., Давыдова Т.В. Амнестическое действие антител к глутамату при экспериментальной болезни Альцгеймера // Бюл. exper. биол. — 2010. — Т. 150, №7. — С. 28-30.
2. Давыдова Т.В., Воскресенская Н.И., Горбатов В.Ю. и др. Особенности образования аутоантител к глутамату при деменциях альцгеймеровского типа // Бюл. exper. биол. — 2009. — Т. 147, №4. — С. 385-387.
3. Колобов В.В., Давыдова Т.В., Захарова И.А. и др. Репрессирующее влияние антител к глутамату на эксп-

рессию гена *Dffb* в мозге крыс при экспериментальной болезни Альцгеймера // Молекуляр. биология. — 2012. — Т. 46, №5. — С. 757-765.

4. **Кудряшов И.Е., Яковлев А.А., Кудряшова И.В., Гуляева Н.В.** Ингибирование каспазы-3 блокирует длительную потенциацию в срезах гиппокампа // Журн. высш. нерв. деят. — 2003. — Т. 53, №5. — С. 537-540.

5. **Солнцева С.В., Никитин В.П.** Эффекты агонистов NMDA рецепторов глутамата и серотонина на разных стадиях амнезии, вызванной нарушением реконсолидации долговременной памяти // Нейрохимия. — 2010. — Т. 27, №3. — С. 214-220.

6. **Степанчиков М.Ю., Онуфриев М.В., Мусеева Ю.В.** и др. Влияние фактора некроза опухоли-альфа и бета-амилоидного пептида (25-35) на показатели свободнорадикального окисления и активность каспазы-3 в мозге крыс // Нейрохимия. — 2006. — Т. 23, №3. — С. 217-222.

7. **Сторожева З.И., Солнцева С.В., Никитин В.П.** и др. Необратимая амнезия у крысы и виноградной улитки при нарушении реконсолидации ассоциативной памяти антагонистом рецепторов NMDA рецепторов // Бюл. эксперим. биол. — 2010. — Т. 150, №9. — С. 253-258.

8. **Шерстнёв В.В., Юрасов В.В., Сторожева З.И., Грудень М.А.** Сопряжённые процессы нейроглиогенеза и апоптоза в зрелом мозге у крыс // Нейрохимия. — 2008. — Т. 25, №4. — С. 309-316.

9. **Яковлев А.А., Гуляева Н.В.** Плейотропные функции протеиназ мозга: методические подходы к исследованию и поиск субстратов каспазы // Биохимия. — 2011. — Т. 76, №10. — С. 1325-1334.

10. **Bures J., Buresova O., Huston J.P.** Techniques and basic experiments for the study of brain behavior. — Amsterdam: Elsevier, 1987. — 227 p.

11. **Farooqui A.A.** Neurochemical aspects of neurodegenerative disease // Neurochemical aspects of neurotraumatic and neurodegenerative diseases / Ed. Farooqui A.A. — New York: Springer, 2010. — P. 249-324.

12. **Gervais F.G., Xu D., Robertson G.S.** et al. Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amy-

loid-beta precursor protein and amyloidogenic A beta peptide formation // Cell. — 1999. — Vol. 97, №3. — P. 395-406.

13. **Harkany T., Abraham I., Timmerman W.** et al. Beta-amyloid neurotoxicity is mediated by a glutamate-triggered excitotoxic cascade in rat nucleus basalis // Eur. J. Neurosci. — 2000. — Vol. 12, №8. — P. 2735-2745.

14. **Harkany T., O'Mahony S., Kelly J.P.** et al. Beta-amyloid(Phe(SO<sub>3</sub>H)<sub>24</sub>)<sub>25-35</sub> in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation // Behav. Brain Res. — 1998. — Vol. 90, №2. — P. 133-145.

15. **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. — Vol. 10, №4. — P. 1185-1201.

16. **Parson C.G., Stoffler A., Danysz W.** Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system — too little activation is bad, too much is even worse // Neuropharmacol. — 2007. — Vol. 53, №6. — P. 699-723.

17. **Seguela P., Geffard M., Buijs R., Le Moat M.** Antibodies against gamma-aminobutyric acid: specificity studies and immunocytochemical results // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1984. — Vol. 81, №12. — P. 3888-3892.

18. **Su J.H., Zhao M., Anderson A.J.** et al. Activated caspase-3 expression in Alzheimer's and aged control brain: correlation with Alzheimer pathology // Brain Res. — 2001. — Vol. 898, №2. — P. 350-357.

19. **Walsh D.M., Selkoe D.J.** Aβ oligomers — a decade of discovery // J. Neurochem. — 2007. — Vol. 101, №5. — P. 1172-1184.

20. **Weiskrantz L., Mondadori C.** MK-801 can facilitate passive avoidance memory when retention is not present in control animals, and can fail to facilitate when it is present // Psychopharmacology (Berl.) — 1991. — Vol. 105, №2. — P. 145-150.

Поступила 21.12.12

#### Сведения об авторах:

**Фомина Валентина Гавриловна**, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории нейроиммунопатологии ФГБУ «ННЦ» РАМН

**Горбатов Виктор Юрьевич**, канд. мед. наук, мл. науч. сотр. лаборатории нейроиммунопатологии ФГБУ «ННЦ» РАМН

**Давыдова Татьяна Викторовна**, д-р мед. наук, главн. науч. сотр. лаборатории нейроиммунопатологии ФГБУ «ННЦ» РАМН