

ГК-2 – дипептидный миметик 4-й петли NGF проявляет активность на клеточной модели болезни Паркинсона и увеличивает содержание BDNF

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был сконструирован и синтезирован димерный дипептидный миметик 4-й петли фактора роста нервов (NGF), гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина, получивший лабораторный шифр ГК-2 (Ru Patent №2410392, 2010; US Patent US 9,683,014 B2, 2017; CN Patent CN 102365294 B, 2016; Патент ЕПВ EP 2397488, 2019). Этот дипептид активировал специфический для NGF тирозинкиназный рецептор TrkA и обладал нейропротекторной активностью в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* на моделях нейродегенеративных заболеваний. Для ГК-2 были также выявлены антипаркинсонические эффекты в экспериментах *in vivo* на моделях галоперидоловой катаlepsии и паркинсонического синдрома, индуцированного МФТП или 6-гидроксидофамином (6-ОНДА). Болезнь Паркинсона характеризуется гибелью дофаминэргических нейронов, на которых отсутствуют TrkA рецепторы, но экспрессируются специфические для мозгового нейротрофического фактора (BDNF) рецепторы TrkB. BDNF также способен защищать нейроны от гибели и проявлять антипаркинсонический эффект. Поскольку известно, что NGF повышает экспрессию BDNF в нейронах, то мы предположили, что способность миметика NGF ди-

пептида ГК-2 проявлять антипаркинсоническую активность связана с его способностью влиять на содержание BDNF в нейронах.

Цель исследования состояла в доказательстве предположения о связи антипаркинсонического эффекта ГК-2 с индукцией синтеза BDNF.

Материалы и методы. Дипептид ГК-2 был синтезирован в отделе химии НИИ фармакологии им. В.В. Закусова. Для изучения влияния на содержание BDNF методом Вестерн-блот анализа ГК-2 использовали в конечной концентрации 10-8М, установленной в экспериментах по нейропротекторному действию этого соединения на культуре гиппокампальных клеток линии HT-22. Для исследования антипаркинсонической активности на клетках SH-SY5Y использовали ГК-2 в диапазоне концентраций 10-5 – 10-8М. В качестве положительного контроля использовали NGF в конечной концентрации 10-9М. Жизнеспособность клеток определяли с помощью МТТ-анализа. Для оценки межгрупповых различий при сравнении двух групп при обсчете результатов Вестерн-блот анализа использовали U-критерий Манна-Уитни и критерий Краскела-Уоллиса с последующим тестом по Данну (ANOVA) при обработке данных МТТ-теста. Данные считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результы. Нейротоксин 6-ОНДА, внесенный в культуру клеток SH-SY5Y в концентрации 100 мМ, через 48 ч приводил к статистически значимому снижению их жизнеспособности. NGF в концентрации 10-9 М при добавлении за 24 ч до 6-ОНДА полностью предотвращал развитие повреждающего действия нейротоксина, а при добавлении через 24 ч после 6-ОНДА обладал 100%-ным лечебным эффектом. Дипептид ГК-2 в концентрации 10-5М, подобно NGF, проявлял статистически достоверный как профилактический, так и лечебный защитный эффект. Однако эти эффекты были менее выраженными по сравнению с эффектами полноразмерного нейротрофина. По данным Вестерн-блот анализа NGF в конечной концентрации 10-9М через 24 ч после внесения достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивал содержание BDNF в клетках HT-22 в 1,6 раза по сравнению с контролем с $2,3 \pm 0,1$ до $3,6 \pm 0,3$ о.д.е (относительные денситометрические единицы). Дипептид ГК-2 в концентрации 10-8М также достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивал содержание BDNF в этих же клетках в 1,4 раза по сравнению с контролем, с $2,3 \pm 0,1$ до $3,2 \pm 0,6$ о.д.е.

Выводы:

1. низкомолекулярный миметик NGF дипептид ГК-2 обладает активностью на клеточной модели болезни Паркинсона;
2. ГК-2 подобно NGF увеличивает содержание BDNF в культуре нейронов HT-22.