

Новый подход к лечению болезни Альцгеймера

Липкин Валерий Михайлович

- Профессор, доктор химических наук,
- Член-корреспондент Российской академии наук,
- Заведующий лаборатории белков гормональной регуляции.
- Институт биоорганической химии, Российской академии наук, Москва, ул.Миклухо-Маклая 16/10

- **Телефон/Факс:** (095)336-61-66
- **E-mail:** *vmipkin@mail.ibch.ru*

Цель проекта

- Поиск новых подходов к лечению болезни Альцгеймера и других нейродегенеративных заболеваний на основе применения пептида HLDF-6.
- Изучение молекулярного механизма действия пептида HLDF-6.

Лейкоцитарный фактор дифференцировки человека (HLDF)

- HLDF впервые был выделен в лаборатории белков гормональной регуляции ИБХ РАН из культуральной среды клеток человеческой промиелоцитарной линии HL-60 , обработанных ретиноевой кислотой (I.A.Kostanyan et al, FEBS Letters,1994)
- Белок вызывает дифференцировку клеток исходной линии по гранулоцитарному пути.
- HLDF проявляет свойства неспецифической нуклеазы и играет важную роль в индукции апоптоза в клетках HL-60.
- Проявление дифференцирующей или цитотоксической активности HLDF зависит от локализации фактора в клетках HL-60

Лейкоцитарный фактор дифференцировки человека (HLDF):

¹*AGLMASLKLMLSAGPFVGVWSQMIPFSD
WPRRWHRLKELLTGENHRCGIFVINK*⁵⁴

HLDF-8



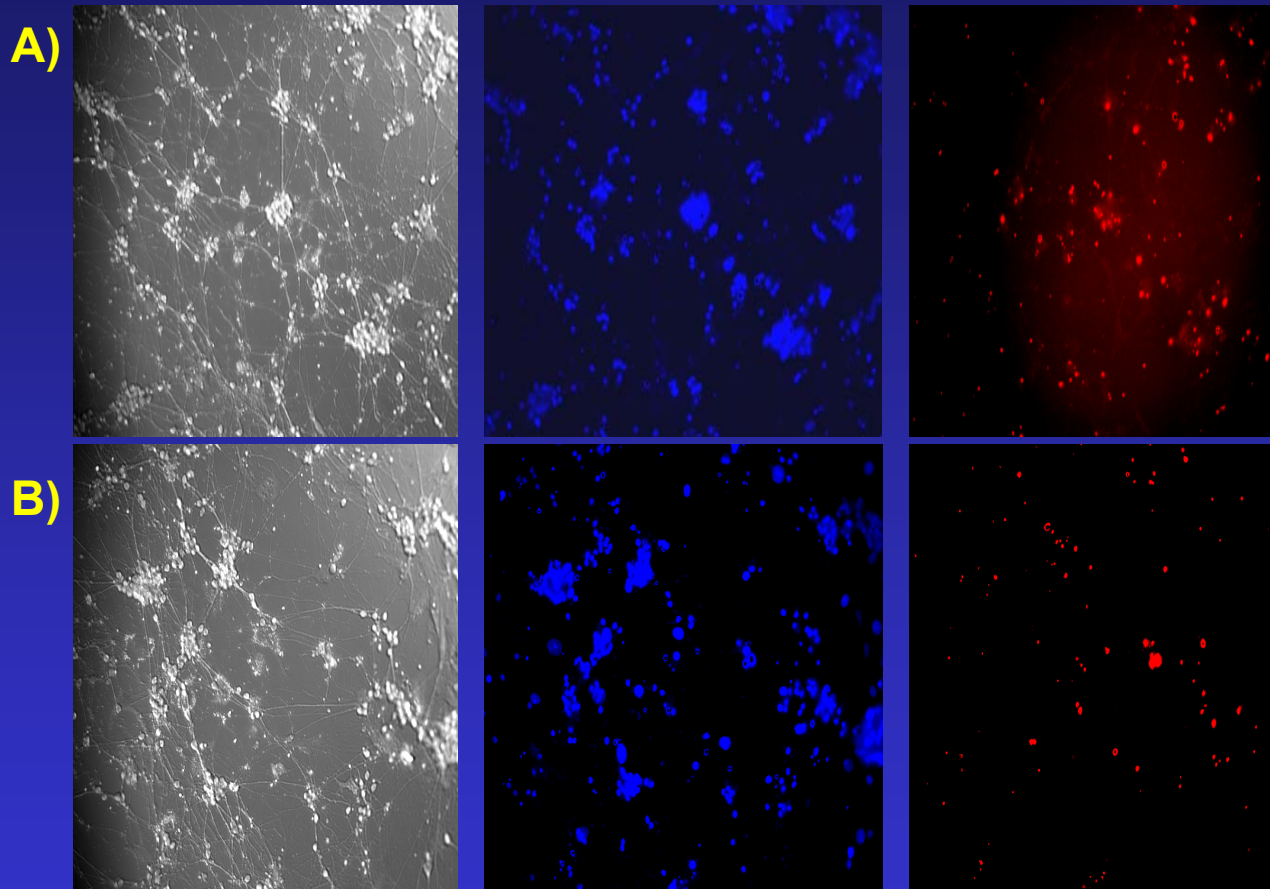
Нуклеазная активность
Индукция апоптоза

HLDF-6



Дифференцирующая
активность
Нейропротекторная
активность

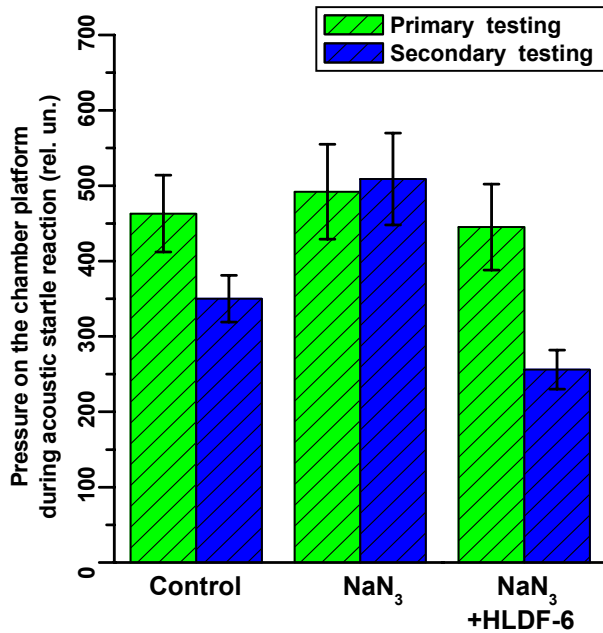
Влияние HLDF-6 на жизнеспособность морфинизированных гранулярных нейронов мозжечка крысы после отмывания морфина



Вывод: В присутствии HLDF-6 количество клеток с признаками апоптоза уменьшается

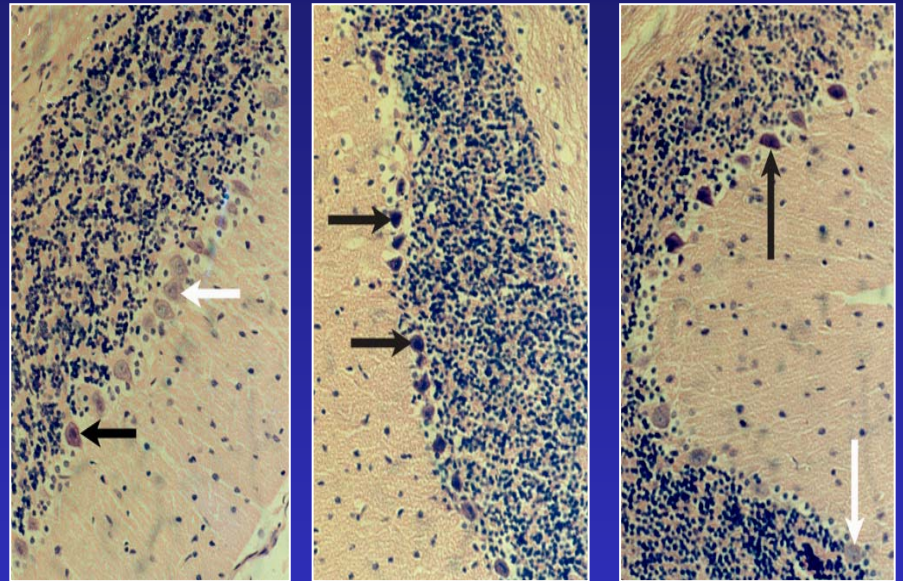
HLDF-6 PROTECTIVE EFFECT AGAINST NaN_3 -INDUCED HYPOXIA IN VITRO

Acoustic startle habituation:



Conclusion: HLDF-6 protects Purkinje cells and recovers normal behavioral reactions in rats which are failed upon chemically induced hypoxia-like state of the vermis cerebelli

Histological slices of the rat *vermis cerebelli*



Control

25%
damaged
Purkinje cells

NaN_3 (1 mM)

63%
damaged
Purkinje cells

NaN_3 (1 mM) +
HLDF-6 (100 μM)

42%
damaged
Purkinje cells

→ normal Purkinje cells

→ damaged Purkinje cells

Болезнь Альцгеймера

Наиболее часто встречаемое нейродегенеративное заболевание

Характеризуется ухудшением познавательных функций, включая обучение и память.

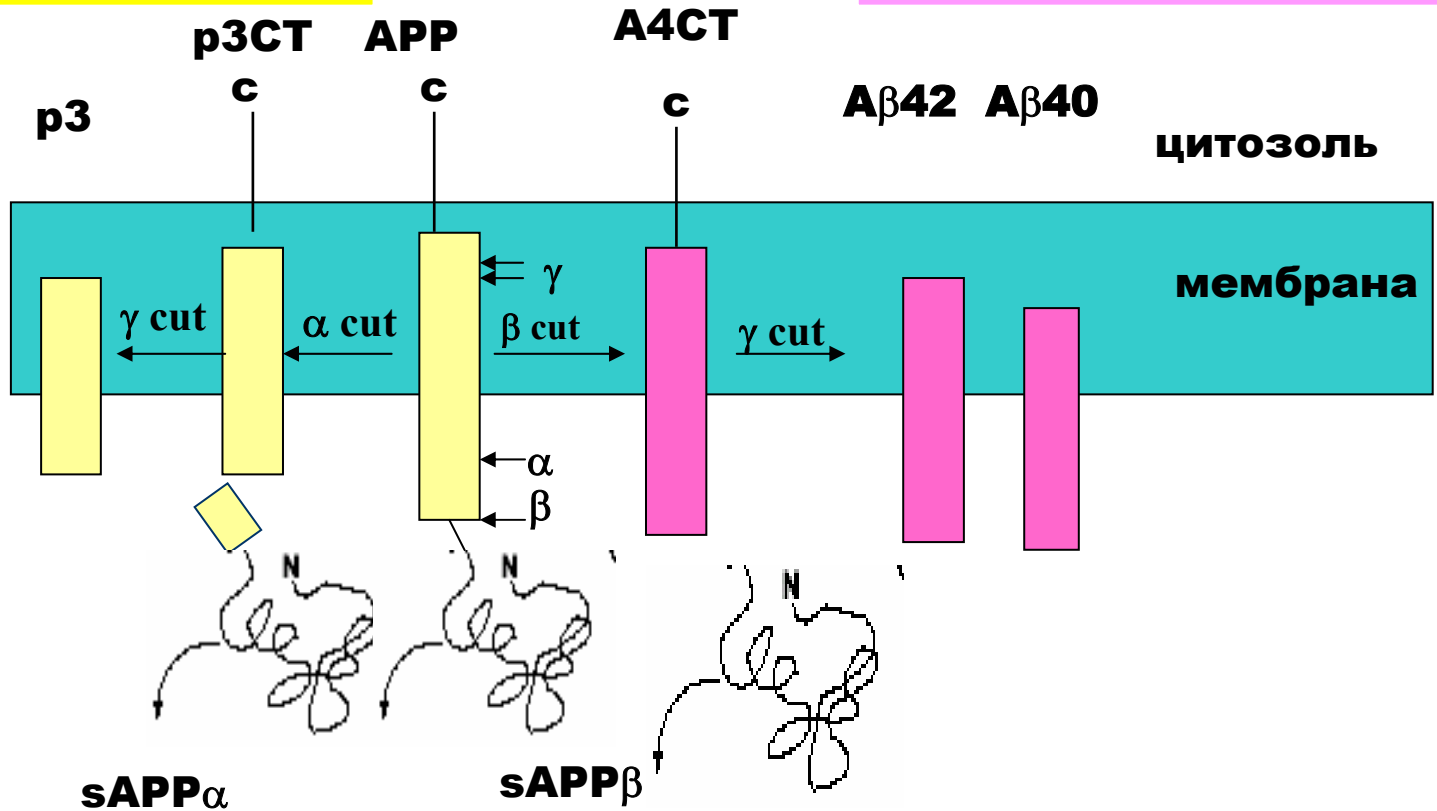
Клинические признаки:

- Наличие сенильных бляшек
- Внутриклеточные нейрофибрилярные сплетения, формируемые белком цитоскелета *tau*
- Нейропильные выросты в дендритах
- Уменьшение числа синапсов и гибель нейрональных клеток.

β -Амилоидные ($A\beta$) пептиды - основной компонент сенильных (амилоидных) бляшек, $A\beta$ появляются в результате эндопротеолиза большого трансмембранного белка: белка предшественника β -амилоида (APP).

Нормальный путь

Амилоидогенный путь

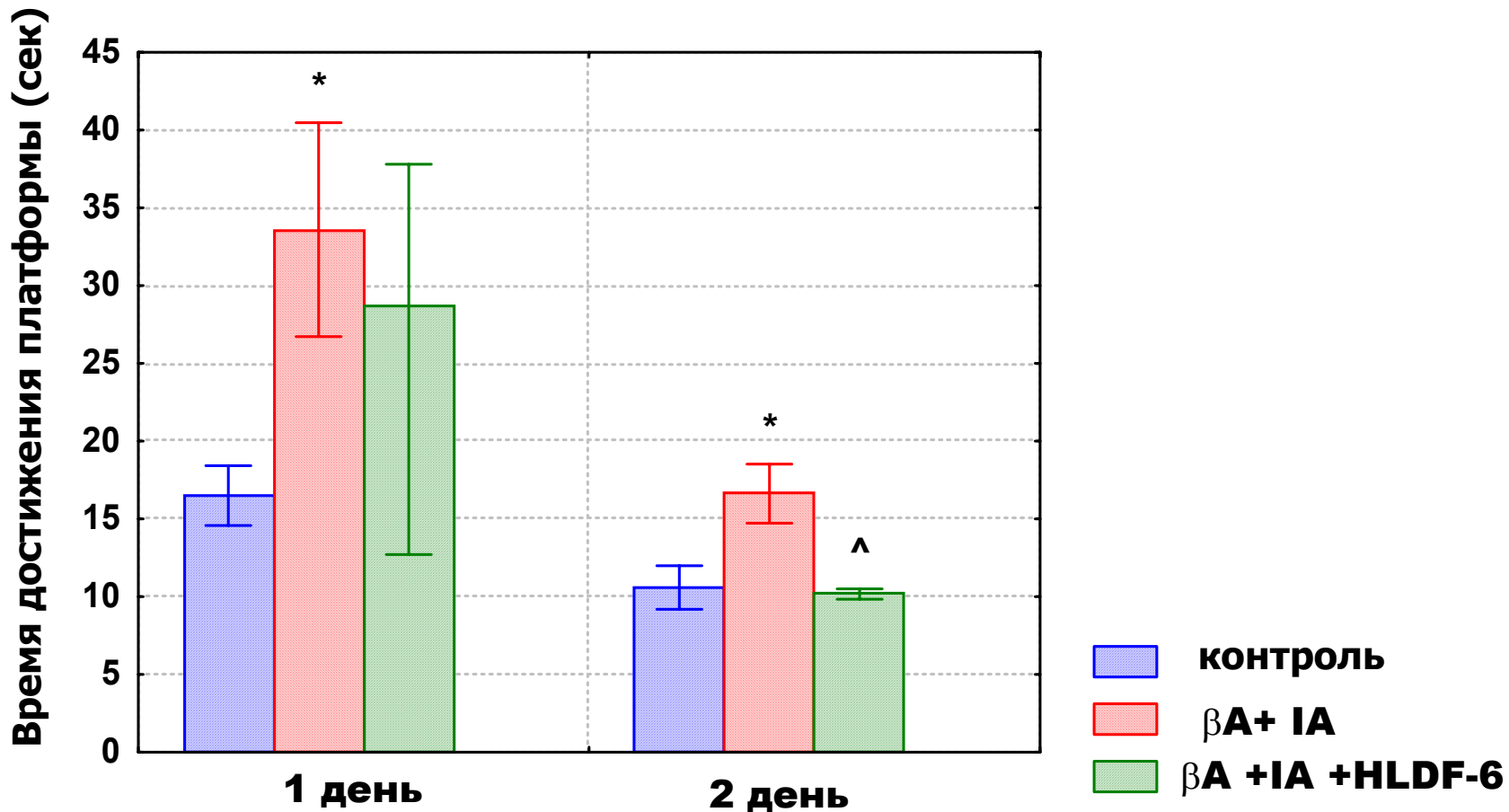


Процессинг белка предшественника β -амилоида (APP)
под действием α -, β - и γ -секретаз

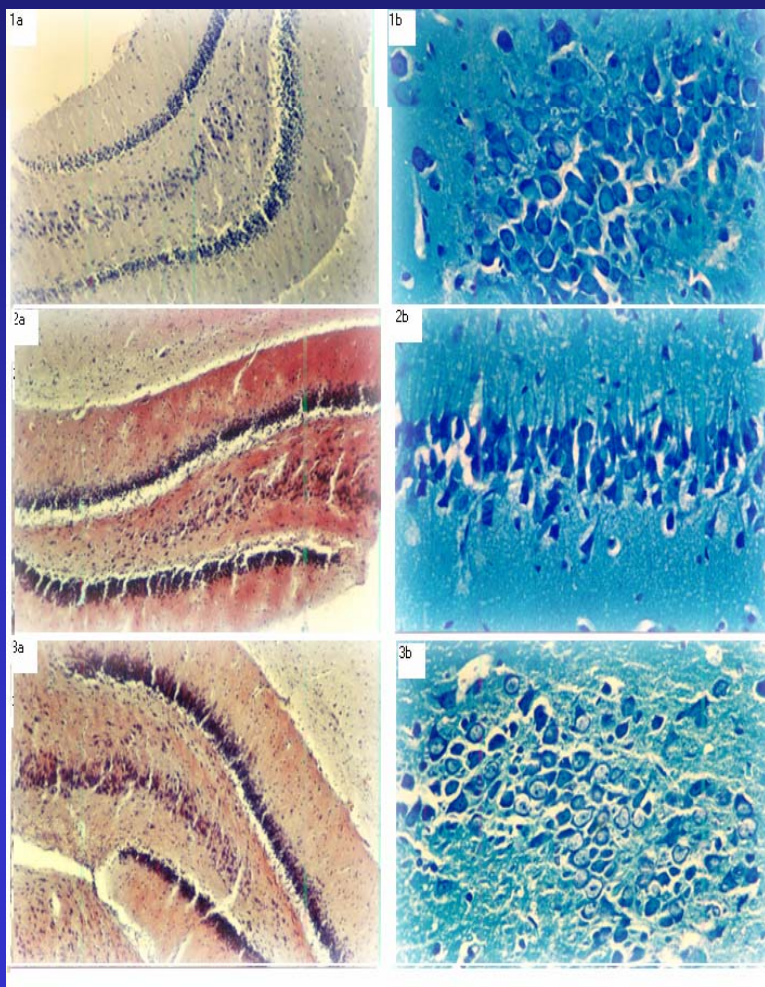
Модель болезни Альцгеймера у грызунов, используемая в проекте

- Совместные инъекции фрагментов β -амилоидных пептидов (25-35, 1-42, 1-43) $A\beta$ и иботеновой кислоты (IA) в гиппокамп крыс, которые вызывают значительную гибель нейронов.

Влияние HLDF-6 на обучение крыс в водном лабиринте



Эффект HLDF-6 на клетки гиппокампа крыс при экспериментальной модели болезни Альцгеймера



•1a, 1b – срезы гиппокампа здоровых животных

•2a, 2b – срезы гиппокампа крыс после введения $A\beta+IA$

3a, 3b - срезы гиппокампа крыс после введения $A\beta+IA$, получавших HLDF-6

a – окрашивание Конго красным;
b – окрашивание по Нисль

Предварительный план исследований

■ **Фундаментальные исследования**

- Изучение влияния пептида HLDF-6 на:
 - Фибриллообразование амилоидных пептидов
 - Жизнеспособность нейрональных клеток при их повреждении A β пептидами и L-Glu
 - Связывание провосполительных цитокинов с клетками и экспрессию мРНК этих цитокинов в нейрональных клетках
 - Функционирование митохондрий при повреждающем действии A β пептидов
 - Защиту и дифференцировку стволовых клеток
 - Гормональный статус животных

■ **Прикладные исследования**

- Определение оптимальных доз и способа введения пептида HLDF-6 на трансгенных и нетрансгенных моделях болезни Альцгеймера у грызунов
- Исследования модулирующего влияния HLDF-6 при транспланта-ции стволовых клеток животным с экспериментально вызванной болезнью Альцгеймера

Научная ценность Проекта

- Выяснение роли пептида HLDF-6 как регулятора нарушенных функций гомеостаза у животных в экспериментальных моделях болезни Альцгеймера.
- Выяснение молекулярных механизмов действия пептида HLDF-6 при коррекции нейродегенеративных изменений на организменном и клеточном уровнях.

Прикладная и коммерческая ценность Проекта

- Данные о свойствах пептида HLDF-6 позволят разработать новые научно-обоснованные методы лечения нейродегенеративных заболеваний и, в первую очередь, болезни Альцгеймера.
- Отработка методов синтеза пептида HLDF-6 и его аналогов; результаты исследования их физико-химических свойств позволят разработать технологию получения препарата для лечения болезни Альцгеймера.

Контактная Информация

Липкин Валерий Михайлович

- Профессор, доктор химических наук, Член-корреспондент Российской академии наук,
- Заведующий лаборатории белков гормональной регуляции.
- Адрес: Институт биоорганической химии, Российской академии наук, Москва, ул.Миклухо-Маклая 16/10
- **Телефон/Факс:** (095)336-61-66
- **E-mail:** *vmipkin@mail.ibch.ru*