

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-1-14-24

## ЭФФЕКТЫ ПРИРОДНОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ПИГМЕНТА АСТАКСАНТИНА И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

И. К. Малашенкова<sup>1,2</sup>, А. А. Селищева<sup>1,3</sup>, Е. А. Куликов<sup>1</sup>, Д. П. Огурцов<sup>1,2</sup>,  
С. А. Крынский<sup>1</sup>, Н. Ю. Лотош<sup>1</sup>, С. Н. Москвина<sup>1</sup>, Б. М. Величковский<sup>1</sup>

Обзор посвящен анализу современной литературы по изучению эффектов каротиноида астаксантина и перспективам его применения при неврологической патологии. Описываются физико-химические характеристики астаксантина, предполагаемые механизмы его антиоксидантного, противовоспалительного и иммуномодулирующего действия. В контексте роли нейровоспаления и окислительного стресса в патогенезе болезни Альцгеймера, обсуждаются результаты исследований использования астаксантина при нейродегенерации. Обосновывается перспективность изучения астаксантина как потенциального лекарственного средства в комплексной терапии ранних стадий болезни Альцгеймера.

**Ключевые слова:** астаксантин; болезнь Альцгеймера; нейровоспаление; нейродегенерация; окислительный стресс; системное воспаление; иммунитет.

### ВВЕДЕНИЕ

В развитии нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера (БА), большую роль играют окислительный стресс (ОС), гипоксия, дисфункция митохондрий, избыточная активация микроглии и нарушения иммунитета, которые приводят к нейровоспалению и нейродегенерации. В норме активные формы кислорода (АФК) и азота выполняют важные функции в гомеостазе, в передаче сигналов (через пути JAK/STAT), в ответе иммунитета на инфекции, в энергетическом обмене, контроле пролиферации клеток и ангиогенезе, а также в ремоделировании тканей через активацию апоптоза и другие механизмы. Избыток АФК может вызвать гибель клеток по механизму апоптоза или аутофагии [64]. Основными источниками АФК является цепь переноса электронов на внутренней мембране митохондрий и НАДФ-оксидаза активированных фагоцитов при развитии кислородного взрыва, которые продуцируют провоспалительные медиаторы (интерлейкины, хемокины, молекулы адгезии, факторы роста), поддерживающие ОС, воспаление и повреждение клеток и тканей. ОС вызывают интоксикации различного генеза, включая инфекции, а также воздействия повреждающих факторов внешней среды (тяжелые металлы, компоненты сигаретного дыма, бытовые яды, лекарственные средства). Антиоксидантный потенциал митохондрий, препятствующий

ОС, уменьшается при наличии генетической предрасположенности и при старении [60].

Известно, что избыток АФК может вызывать перекисное окисление липидов (ПОЛ), белков и дестабилизацию мембран клеток, а также повреждение ядерной и митохондриальной ДНК и нарушение гомеостаза  $Ca^{2+}$ . Нейроны головного мозга (ГМ) подвергаются высокому риску избыточной продукции АФК и окислительного повреждения из-за больших объемов потребления  $O_2$  для обеспечения своих функций (около 20 %  $O_2$  и 25 % всей глюкозы). Уязвимость нейронов обусловлена также большим количеством в них активных металлов, особенно  $Fe^{2+}$ , способствующих образованию АФК.  $Fe^{2+}$  играет важную роль в качестве кофактора многих ферментов, особенно для синтеза АТФ, ДНК, РНК, белков, нейромедиаторов и процесса миелинизации. Считают, что накопление  $Fe^{2+}$  в ГМ — признак его старения и нейродегенерации [59].

Также, в мозговой ткани — высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот, которые более чувствительны к окислению, чем насыщенные и мононенасыщенные жирные кислоты, и сравнительно невысокие уровни антиоксидантных ферментов. Учитывая уязвимость нейронов к АФК, неудивительно, что они участвуют в инициации и прогрессировании БА [64]. Совершенно очевидно, что необходим поиск фармакологических веществ, направленных на предотвращение повреждения нейронов АФК и провоспалительными медиаторами, а также на уменьшение воспалительной активации микроглии.

Астаксантин (АК) относится к группе каротиноидов — природных органических пигментов и обладает антиоксидантными свойствами. Он более эффективно взаимодействует с синглетным кислородом, чем другие каротиноиды-антиоксиданты этой группы ( $\beta$ -кар-

<sup>1</sup> НИЦ “Курчатовский институт”, Россия, Москва, 123182, пл. Академика Курчатова, 1.

<sup>2</sup> ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Россия, Москва, 119435, Малая Пироговская ул., 1а.

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва, 119991, Ленинские горы, 1.

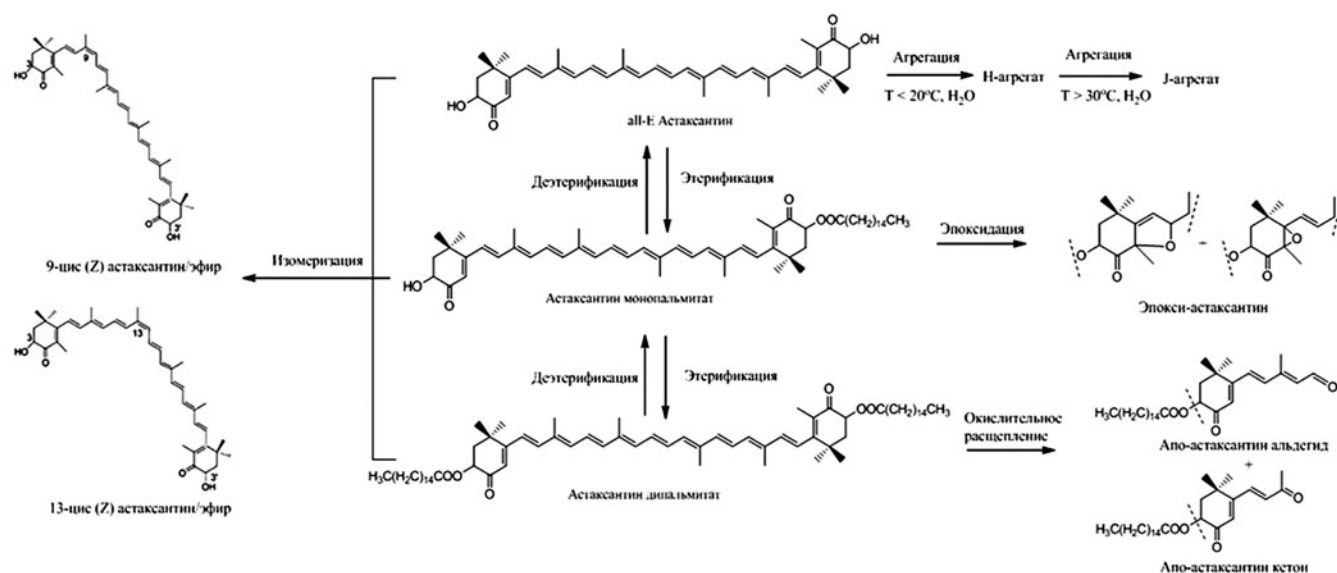


Схема превращения АК и его эфиров. Пояснения в тексте.

тин, кантаксантин, зеаксантин). В исследованиях с участием добровольцев было обнаружено, что АК может блокировать окисление липопротеина низкой плотности, улучшать липидный обмен, оптимизируя уровень липидов и адипонектина, а также снижать уровень воспаления [24].

Показано, что АК обладает противовоспалительными эффектами и уменьшает повреждающее действие воспаления [48]. Есть отдельные работы, в которых сообщалось о наличии у АК иммуномодулирующих эффектов, в частности, он стимулировал активность  $T_H$  1 типа [14].

### 1. Структура и физико-химические свойства АК

АК (3,3'-диокси-4,4'-диоксо- $\beta$ -каротин) (схема) — природный пигмент, относящийся к группе кислородсодержащих каротиноидов (ксантофиллов) и имеющих сходное с ними строение: центрально-симметричный скелет, составленный из шести изопреноидных фрагментов, образующих систему с 11 двойными сопряжёнными  $\beta$ -связями. На концах молекулы расположены два  $\beta$ -иононовых кольца с гидроксильными группами в 3 и 3' и кето-группами в 4 и 4' положениях. Таким образом, за счёт того, что центральная полиеновая цепь образует гидрофобный участок, а концевые гидроксильные и кето-группы — гидрофильный, молекулу АК можно считать амфифильной. В природе молекула АК находится преимущественно в такой конформации, когда углероды при всех двойных связях находятся в транс-положении относительно друг друга (схема). Изменение конформации изопреноидной цепи приводит к образованию цис-изомеров (Z-изомеры), среди которых наиболее стабильными и распространёнными являются 9Z и 13Z. Как оказалось, цис-изомеры, особенно 9Z, обладают более высокой антиоксидантной активностью, чем другие изо-

меры [33]. В то же время 13Z в большей концентрации накапливается в плазме при пероральном приёме АК, чем 9Z [46]. Однако цис-изомеры АК менее стабильны, чем транс-изомеры, поэтому при хранении быстро переходят в более устойчивую форму [68].

Все изомеры АК неустойчивы к воздействию света, высокой температуры и  $\text{O}_2$  за счёт длинной системы сопряжённых двойных связей [66]. Следует отметить, что при изучении антиоксидантных свойств АК и/или его нейропротективного действия у животных с нейродегенеративными изменениями фармакологическое вещество должно быть охарактеризовано не только по чистоте, но и по содержанию цис- и транс-изомеров. Все перечисленное усложняет задачу создания надёжной лекарственной формы АК.

При интенсивном освещении происходит окисление АК и его эфиров с образованием эпоксидов, а также деградация молекулы, в результате чего образуются апо-продукты, имеющие укороченную полиеновую цепь. На схеме приведены формулы транс- и цис-изомеров АК, его моно- и диэфиров, продуктов окисления и деструкции (эпокси- и апо- производных).

### 2. Антиоксидантные свойства АК

Ранее предположили, что АК в клетках микроводорослей при действии стресса (свет высокой интенсивности) на первых этапах может защищать липиды от ПОЛ, а в дальнейшем — взаимодействовать с синглетным  $\text{O}_2$ , защищая хлорофилл от разрушения. Для подтверждения этого предположения оценивали антиоксидантную активность АК в модельных системах, в которых генерировались разные АФК: образование гидроксил-радикала ( $\cdot\text{OH}$ ) в реакции Фентона [57]; системы, генерирующие синглетный кислород ( $1\text{O}_2$ ) (освещение ультрафиолетовым светом раствора краски бенгальский розовый или раствора гематопорфирина [44], действие пероксида на  $\text{NaOCl}$ ); системы, гене-

пирующие супероксид-анион-радикал (ультрафиолетовое облучение рибофлавина) [44].

При попытке включить АК в растительные масла, стабилизированные детергентами, оказалось, что для стабильности АК необходимо добавление в эмульсии различных антиоксидантов и хелатора  $\text{Ca}^{2+}$  [8].

АК взаимодействует с отдельными АФК, в результате чего протекают две реакции: окисление, при котором образуются эпоксиды, и окислительная деструкция, продуктами которой являются апо-соединения [44]. Весьма интересны результаты исследования по влиянию разных каротиноидов на ПОЛ в двух модельных системах: при окислении мультиламеллярных везикул соевого фосфатидилхолина и триацилглицерин гидроксила-радикалом и при окислении мицелл линолевой кислоты метмиоглобином [19, 57]. При сравнении антиоксидантного действия  $\beta$ -каротина, ликопина и АК в этих модельных системах не нашли существенных отличий.

Авторы указывают на возможность сочетания нескольких механизмов, ответственных за ингибирование ПОЛ каротиноидами: а) способность каротинов и каротиноидов отдавать электрон и образовывать стабильный радикал благодаря делокализации электрона по полиеновой цепи; б) чувствительность каротиноидов к Fe-индуцированному аутоокислению, в результате чего снижается активная концентрация каротиноидов, ответственная за поглощение липидных пероксид-радикалов; в) способность радикалов каротиноидов реагировать с  $\text{O}_2$ , формируя пероксид-радикал, который может усилить ПОЛ (прооксидантный эффект). Кроме того, показано, что АК регулирует ОС, понижая соотношение фосфорилированной внеклеточной регулируемой протеинкиназы и ее нефосфорилированной формы (p-ERK/ERK) [17], активирует образование комплексов транскрипционного фактора Nrf2 (фактор 2, родственник NF-E2) с элементами антиоксидантного ответа (Nrf2/ARE) и увеличивает высвобождение гемоксигеназы-1 (HO-1), глутатион-S-трансферазы- $\alpha 1$  (GST- $\alpha 1$ ) и НАДФ-хиноокси-редуктазы-1 (NQO-1) [16].

В качестве основного сигнального пути против окислительного стресса, путь Kelch-подобный ECH-ассоциированный белок 1 (Keap1)-Nrf2-ARE играет ключевую роль в клеточном антиоксидантном ответе. В отсутствие ОС Keap1 связывает и расщепляет белок Nrf2 в цитоплазме. Keap1 содержит несколько остатков цистеина, которые, будучи модифицированными окислением или электрофилами, инициируют его отщепление от Nrf2 при ОС. Это приводит к накоплению в цитоплазме, а затем и ядерной транслокации вновь синтезированного Nrf2 для связывания с ARE [4]. Комплекс Nrf2-ARE, в свою очередь, ослабляет экспрессию НАДФ-хиноокси-редуктазы-1, супероксиддисмутазы (SOD) и других регуляторных ферментов для активации защитной системы [4]. В то время как глутатионредуктаза и тиоредоксинредуктаза обес-

печивают стабильность комплексов Keap1-Nrf2, а также IkB-NF- $\kappa$ B, цитозольный  $\text{H}_2\text{O}_2$  вызывает диссоциацию комплексов и обеспечивает ядерный транспорт NF- $\kappa$ B и Nrf2 [55]. Считается, что образование комплексов Nrf2-ARE снижает концентрацию АФК, сохраняя баланс между АФК и антиоксидантным потенциалом [15]. Также АК ингибирует апоптоз, блокируя p-ERK/ERK, цитохром C, каспазу 3,9 и соотношение Вах/Bcl2 [16, 17].

### 3. Противовоспалительные и иммуотропные свойства АК

Показано, что АК блокирует фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (MIF), субъединицу 2B рецептора (P) N-метил-D-аспартата (NR2B) и IkB киназу  $\beta$  (Ikk  $\beta$ ), участвующую в активации NF- $\kappa$ B, что подавляет воспаление [17]. Также известно, что он угнетает синтез провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ), молекулы межклеточной адгезии 1 (ICAM1) и белка-1 хемоаттрактанта моноцитов (MCP-1) [16]. Кроме того, АК может восстанавливать уровни активности антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидазы, СОД и глутатиона), уменьшать возрастные изменения в ГМ и увеличивать уровень нейротрофического фактора (BDNF) в тканях ГМ, включая гиппокамп [61]. При суточной инкубации с макрофагами линии THP-1 АСТ (5 – 10  $\mu\text{M}$ ) подавлял экспрессию P CD36, активность и экспрессию металлопротеиназ -1, -2, -3, -9, -12 и -14 и генов медиаторов воспаления (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, iNOS и ЦОГ-2). По-видимому, противовоспалительный эффект связан с его ингибирующим действием на активность NF- $\kappa$ B [48].

Выявлено благоприятное действие АК при воспалительных заболеваниях, ассоциируемых с ОС: диабетической нефропатии у мышей, повреждении скелетных мышц и сердечной мышцы, вызванных физической нагрузкой у мышей и других [27, 65]. Так, у мышей линии db/db (с сахарным диабетом), прием с кормом (12 недель) 0,02 % раствора АК (Fuji Chem. Industry Co., Ltd, Toyama, Япония) снизил уровень глюкозы в крови, выделение альбумина и 8-гидрокси-деоксигуанозина с мочой.

Показано, что мишенями АК являются рецепторы, активируемые пролифератором пероксисом (PPAR) — ядерные факторы транскрипции, играющие важную роль в регуляции энергетического гомеостаза (метаболизм жирных кислот, повышение чувствительности к инсулину) и клеточных процессов (дифференцировка, пролиферация и апоптоз) [11]. Также PPARs являются одними из модуляторов иммунных и воспалительных реакций, участвуя в их снижении или завершении [10]. PPARs регулируют выживание, активацию и дифференцировку CD4+T-клеток хелперов: Th1, Th2, Th17, а также регуляторных CD4+ клеток (Treg) [42]. Известны три изоформы PPARs: PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\beta/\delta$  (NR1C2) и PPAR $\gamma$  (NR1C3), которые различаются

представленностью в тканях и органах. PPAR $\alpha$  снижает выработку провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8), экспрессию адгезивных и хемотаксических молекул, индуцирует выработку противовоспалительных агентов (ИЛ-10).

Активация PPAR $\beta/\delta$  подавляет функции NF- $\kappa$ B [26], воспалительную активацию макрофагов через репрессор Bcl, снижающий транскрипцию провоспалительных генов-мишеней, в том числе ИЛ-1 $\beta$ , MCP-1 и матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9). Также PPAR $\beta$  ингибирует поляризацию “провоспалительных” Т-хелперов Th1 и Th17 [42]. PPAR $\beta$  представлен тремя типами: PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 и PPAR $\gamma$ 3. PPAR $\gamma$ 1 экспрессируется почти во всех тканях и клетках, PPAR $\gamma$ 2 – главным образом, в жировой ткани, а PPAR $\gamma$ 3 – в макрофагах, толстой кишке, селезенке и белой жировой ткани. Связывание специфических лигандов с PPAR $\gamma$  ингибирует активацию иммунных клеток и экспрессию воспалительных факторов [45]. PPAR $\gamma$  и его лиганды способствуют апоптозу нейтрофилов, предотвращают взаимодействие тромбоцитов и лейкоцитов, активируют макрофаги M2 (противовоспалительный фенотип) и фагоцитоз [13].

PPARs при активации взаимодействуют с субъединицей p65 NF- $\kappa$ B, ингибируя активность NF- $\kappa$ B, что приводит к подавлению воспаления. Связывание PPAR $\alpha$  и PPAR $\gamma$  с NF- $\kappa$ B приводит к его протеолитической деградации или ингибированию ацетилирования и усилению экспрессии I $\kappa$ B $\alpha$  — ингибитора функций NF- $\kappa$ B. Активация PPAR  $\beta/\delta$  подавляет связывание NF- $\kappa$ B с ДНК. Кроме того, активация PPAR $\alpha$  увеличивает экспрессию сиртуина 1 (SIRT1), который ингибирует NF- $\kappa$ B [26]. В отдельных работах показаны провоспалительные эффекты PPAR $\gamma$ : активация Th 2, секреции ими цитокинов, отвечающих за гуморальный иммунитет (выработку антител) и аллергическое воспаление, в том числе через дендритные клетки. PPAR $\gamma$  может быть вовлечен в патогенез сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и онкологических заболеваний [43].

Большинство исследований показывают, что АК действует как агонист PPAR $\alpha$  и играет роль лиганда для его активации [11]. Данные о влиянии АК на PPAR $\beta/\delta$  разнятся. Немало работ, показывающих, что АК увеличивает экспрессию и ДНК-связывающую активность PPAR $\gamma$  [23], в отдельных исследованиях он проявил себя как антагонист PPAR $\gamma$ , по-видимому, АК действует как селективный модулятор PPAR $\gamma$  [11].

Иммунотропный эффект АК изучали преимущественно *in vitro* на клетках и на экспериментальных моделях ряда заболеваний. Показано, что АК в концентрации 300 нМ на фоне стресса у мышей вызывает пролиферацию лимфоцитов селезенки, увеличивает факторы противовирусной защиты: цитотоксическую активность Т-клеток, естественных киллеров

(NK-клетки) и продукцию ими IFN $\gamma$  [29]. Данные об иммуномодулирующем действии АК у человека немногочисленны. В работах *in vitro* показано, что АК увеличивает продукцию IgM и IgG В-клетками при их инкубации с Т-хелперами, стимулированными антигеном [29]. В двойном слепом рандомизированном контролируемом исследовании на здоровых добровольцах (средний возраст 21,5 года) выявлено, что АК в дозе 2 мг на 8 неделе снижал уровень маркера воспаления С-реактивного белка (СРБ), увеличивал процент активированных лимфоцитов, экспрессирующих интегрин LFA-1. Прием 8 мг вещества в сутки приводил к увеличению числа Т- и В-клеток, повышению активности NK-клеток и уровня ИФ- $\gamma$  [48].

Таким образом, АК обладает антиоксидантным, противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектами.

#### 4. Окислительный стресс и нейровоспаление в патогенезе болезни Альцгеймера

БА — нейродегенеративное заболевание ГМ с прогрессирующей потерей синапсов и нейронов, а также наличием внеклеточных сенильных амилоидных бляшек и внутриклеточных нейрофибриллярных клубков. Внеклеточные бляшки состоят из агрегированных амилоидных (A $\beta$ ) пептидов, образующихся в результате протеолитического расщепления белка-предшественника амилоида (APP)  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазами. Нейрофибриллярные клубки состоят из гиперфосфорилированной формы белка Тау (ГФТ), ассоциированного с микротрубочками. APP — это трансмембранный гликопротеин типа I с длинным N-терминальным доменом и цитоплазматическим C-терминальным доменом, который обнаружен в клетках различных типов, включая нейроны и астроциты. До сих пор физиологические функции APP и A $\beta$  изучены недостаточно. В нейронах в норме APP функционирует как трофический фактор и участвует в процессах синаптогенеза, ремоделирования синапсов и разрастания дендритов. Предполагают, что APP играет ключевую роль в пролиферации, дифференцировке и созревании клеток. Недавно было показано, что APP эндогенно экспрессируется в нейрональных стволовых клетках и повышенные уровни APP влияют на их дифференцировку, способствуя глиогенезу и ингибируя нейрогенез [12]. APP обрабатывается в одном из двух путей: неамилоидогенном с участием  $\alpha$ -секретазы (при этом A $\beta$  не образуется) или амилоидогенном пути с участием  $\beta$ -секретазы и образованием пептида A $\beta$  после дальнейшего расщепления  $\gamma$ -секретазой. Неамилоидогенный путь является доминирующим и конкурирует с амилоидогенным для субстрата APP.

Известно, что в норме A $\beta$  участвует в модуляции ионных каналов, активации киназ, регуляции транспорта холестерина, защищает другие белки от окислительных повреждений, участвует в процессах обуче-

ния и памяти [49]. Интересно, что  $A\beta_{40}$  и  $A\beta_{42}$  присутствуют во время эмбрионального развития и важны для нормального формирования мозга. Уровень  $A\beta$  регулируется инсулиновой протеазой, которая участвует в процессах деградации небольших пептидов (инсулин и мономеры  $A\beta$ ), а также неприлизин-подобной протеазой (заякоренная в мембране эндопептидаза цинка), разрушающей мономеры и олигомеры  $A\beta$  [49].

Снижение уровня этих ферментов рассматривается как одна из причин накопления  $A\beta$  в мозге [49]. Другой причиной может быть недостаточность его клиренса, например, из-за нарушения аутофагии вследствие воспаления [37]. Амилоид- $\beta$ , и, в большей степени, олигомеры  $A\beta$  обладают нейротоксичностью, которая проявляется дисфункцией митохондрий, нарушением гомеостаза  $Ca^{2+}$ , ОС, активацией генно-индукторов апоптоза, развитием нейродегенерации и гибели нейронов [37, 54].

Пептид  $A\beta$  может быть в состояниях от мономеров и димеров до олигомеров и фибрилл, кроме того, он имеет разные изоформы. Изоформы  $A\beta$  варьируются по длине и появляются в разных соотношениях, что может способствовать их агрегации. Кроме того, в зависимости от изоформы, состояния агрегации, стадии развития мозга и концентрации пептида  $A\beta$ , он функционирует либо нормально, либо становится цитотоксическим. Из-за этого многообразия форм, состояний и функций исследования  $A\beta$  остаются сложными, а их результаты противоречивыми [5].

Наиболее изученной мишенью для  $A\beta$  является киназа гликогенсинтазы  $3\beta$  (GSK3 $\beta$ ) и полагают, что этот фермент участвует в патогенезе БА, способствуя фосфорилированию APP, образованию бляшек  $A\beta$ , ГФТ и, соответственно, нейродегенерации. GSK3 $\beta$  участвует во многих физиологических процессах (регуляция морфологии клеток, разрастание нейронов, подвижность и синаптическая пластичность) и влияет на активность более 50 белков. Она регулирует синтез гликогена (ингибирует гликогенсинтазу), обмен глюкозы, ингибируя белки IRS, необходимые для трансдукции сигнала инсулина, и кинезины (обеспечивают перемещение транспортера глюкозы GLUT4 на мембрану клетки). GSK3 $\beta$  может ингибировать циклин D1, необходимый для вступления клетки в S-фазу. GSK-3 $\beta$  занимает важное место в регуляции процессов нейронального морфогенеза и синаптической пластичности (регуляция процессов памяти, обучения и сна). Ингибирование GSK-3 $\beta$  в глутаматергических синапсах стимулирует долговременную потенциацию (ДП), в то время как ее высокая активность наблюдается при долговременной депрессии (ДД). Показано, что GSK-3 $\beta$  подавляет активность белков, необходимых для реорганизации цитоскелета аксонов, препятствуя росту и ветвлению нервных отростков. Однако нейротрофины BDNF, IGF-1, NGF, GDNF блокируют

GSK-3 $\beta$  и способствуют поляризации нейронов, росту и ветвлению аксонов [32].

GSK-3 $\beta$  участвует в образовании  $A\beta$  из его предшественника и ингибирует Tau-белок, что является одним из механизмов патогенеза БА. В свою очередь, ингибирование GSK-3 $\beta$  приводит к повышенной экспрессии шаперонов (важных нейропротективных факторов) и ингибированию проапоптотического фермента каспазы-3, что защищает нейроны. Показано, что GSK-3 $\beta$  способна фосфорилировать внутриклеточные субъединицы серотонинового 5-HT1B P и блокировать его активность, что может вызывать симптомы депрессии. Напротив, активация 5-HT-P ингибирует GSK-3 $\beta$  через протеинкиназы B (Akt1) и C. Кроме того, GSK-3 $\beta$  участвует в регуляции циркадных ритмов. Симптомы депрессии и расстройства циркадных ритмов наблюдаются уже на ранних стадиях БА и являются факторами прогрессирования болезни [32].

Надо подчеркнуть, что GSK-3 $\beta$  участвует в проведении сигнала от Toll-like подобных P на моноцитах, что приводит к усилению продукции ИЛ-1 $\beta$ , ИФ- $\gamma$ , ИЛ-6, ИЛ-12 и подавлению синтеза ИЛ-10. Таким образом, GSK-3 $\beta$  оказывает провоспалительный эффект [5].

В настоящее время растворимые олигомеры рассматриваются как наиболее нейротоксические формы  $A\beta$ , активирующие  $K^+$ -каналы, что приводит к облегченному избыточному входу  $Ca^{2+}$  в нейроны через NMDA-P и стимулирует ПОЛ мембран нейронов. Было показано, что  $A\beta$  может связываться с низкоаффинным рецептором нейротрофина p75 (p75 NTR) и активировать его домен смерти, вызывая апоптоз клеток. Аберрантно повышенная регуляция p75 NTR вместе с понижающей регуляцией TrkA в стареющем мозге приводит к увеличению генерации  $A\beta$ . Кроме того, p75 NTR может усиливать продукцию  $A\beta$  благодаря своей способности стабилизировать  $\beta$ -секретазу посредством активации сфингомиелиназы и, как следствие, продукции церамида [41]. Токсические свойства  $A\beta$  объясняются и его способностью повреждать клеточную мембрану —  $A\beta$  в димерной, тримерной или пентамерной формах и /или его аморфные агрегаты могут связывать поверхности мембран, где они приобретают  $\alpha$ -спиральную структуру с последующей кластеризацией и образованием  $\beta$ -листных агрегатов. Пептиды  $A\beta$  также могут собираться с образованием поры, повреждая мембраны. Кроме того, агрегаты  $A\beta$  могут расти на поверхности мембраны и индуцировать экстракцию липидов с помощью механизма, подобного детергенту [52]. В результате через поврежденные мембраны нейронов возникает неспецифический поток катионов. Амилоид- $\beta$  может также взаимодействовать с ганглиозидами, фосфатидилхолином, фосфатидилглицерином и фосфоинозидами, что вызывает изменения текучести и других свойств мем-

бран нейронов и, в конечном итоге, приводит к разрушению синапсов и гибели клеток [51].

Аβ также нарушает целостность мембран и гомеостаз  $Ca^{2+}$  за счет взаимодействия с  $Ca^{2+}$ -каналами, увеличивая поступление  $Ca^{2+}$  в цитозоль, что повышает уровень постсинаптических реакций, вызывает перегрузку митохондрий  $Ca^{2+}$  деполяризацию мембраны, что приводит к ОС и гибели клеток вследствие апоптоза. К  $Ca^{2+}$ -зависимым относятся рецепторы холинергической и глутаматергической нейромедиаторных систем (AMPA- и NMDA-P), которые экспрессируются в гиппокампе и неокортексе, т.е. в областях КГМ, ответственных за когнитивные функции. Именно в этих областях мозга в первую очередь происходит потеря нейронов при развитии БА [6].

$Ca^{2+}$  является одним из важнейших внутриклеточных мессенджеров, управляющих процессами синаптической пластичности, дифференцировки и эксайтотоксичности (чрезмерная активация рецепторов медиаторов, приводящая к повреждению и гибели нейрона). Вход  $Ca^{2+}$  в шипики через каналы NMDA-P критически важен для реализации ДП и ДД. ДП возникает при высокочастотной активации синапса и приводит к деполяризации постсинаптической мембраны, снятию  $Mg^{2+}$ -зависимого блока каналов NMDA-P, входу значительного количества  $Ca^{2+}$  через NMDA-P в дендритные шипики, что приводит к активации кальмодулина и серии ассоциированных с ним реакций. В конечном итоге, в мембрану шипиков встраиваются дополнительные AMPA-P, что увеличивает амплитуду постсинаптического ответа [36]. В нейронах при синаптической передаче постоянно возникают потенциалы действия, приводящие к притоку  $Ca^{2+}$  через соответствующие каналы, затем происходит его внутриклеточная буферизация и отток через транспортеры плазмалеммы. Эндоплазматический ретикулум и митохондрии играют главную роль в буферизации кальция, а кальциевый насос, АТФ-азы и натриево-кальциевый обменник обеспечивают отток  $Ca^{2+}$  через мембрану [36].

“Кальциевая перегрузка” нейронов и активация  $Ca^{2+}$ -зависимых процессов (повышение активности протеаз, киназ, эндонуклеаз, липооксигеназ, фосфолипазы  $A_2$  и др. ферментов) олигомерами Аβ ведет к значительным изменениям в метаболизме и генетическом аппарате клетки, неконтролируемому действию свободных радикалов и может привести к гибели клетки. Эти ферменты повреждают клеточные структуры: компоненты цитоскелета, наружной мембраны и ДНК. В настоящее время считают, что поступление ионов  $Ca^{2+}$  внутрь клетки через каналы NMDA-P является ключевым событием в реализации токсических эффектов глутамата. Повышенные уровни  $Ca^{2+}$  провоцируют образование оксида азота (NO), активацию чувствительных к нему протеаз и повреждение митохондрий. Проапоптотические механизмы активируют протеазы

(каспазы и кальпаины), а они в свою очередь вызывают фрагментацию ДНК [36].

Также имеются данные, что высокие концентрации Аβ нарушают глутаматергические процессы и затрагивают как пре-, так и постсинаптические механизмы передачи сигнала, а также снижают возбуждающий постсинаптический потенциал и ингибируют NMDA-P-зависимую LTP [39]. Глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором в ЦНС и участвует почти во всех ее функциях, особенно в областях коры и гиппокампа, которые содержат 70 % всех возбуждающих синапсов в ЦНС. Его уровень в ЦНС почти в тысячу раз выше, чем у других нейромедиаторов. Глутамат активирует ионотропные, каинатные, а также три группы метаботропных P. NMDA-P играют одну из главных ролей в регуляции синаптической пластичности, необходимой для нормального функционирования ЦНС и выполнения когнитивных функций.

Предполагают, что внутринейрональные олигомеры Аβ влияют на активность NMDA-P, увеличивая количество глутамата в синаптической щели, в дополнение к прямому агонистическому действию. Показано, что олигомеры Аβ могут накапливаться в пресинаптических и постсинаптических терминалах глутаматергических нейронов, нарушая функции синапса. Накопление Аβ в нейронах с последующим избыточным высвобождением глутамата – важный фактор синаптической дисфункции при БА, которая характеризуется эксайтотоксичностью, десенсibilизацией P глутамата, ингибированием ДП и активацией ДД [39].

Аβ высвобождает глутамат за счет прямого воздействия на ключевые белки, участвующие в стыковке и слиянии синаптических пузырьшков (СП) и регуляции высвобождения глутамата. Аβ также может нарушать механизм передачи сигналов, который регулирует восстановление и доступность СП. Кроме того, увеличение уровня  $Ca^{2+}$  в пресинаптической области способствует слиянию СП и высвобождению глутамата. По-видимому, длительное воздействие пептидов Аβ нарушает перенос и перераспределение СП обратно в пресинаптическое окончание, истощая резервный пул СП. Надо отметить, что уровни переносчиков глутамата EAAT1 и EAAT2, которые ответственны за большую часть его поглощения в глиальных клетках, снижены в гиппокампе больных БА [30]. Также Аβ нарушает функцию PSD-95, каркасного белка, регулирующего распределение и активность NMDA-P и AMPA-P в синапсах [40]. Очевидно, что синаптическая дисфункция, вызванная Аβ, представляет собой сложный процесс, включающий множественные пути, компоненты и биологические события, подробно он изложен в обзоре [39].

В основе патогенеза БА лежит нейровоспаление вследствие хронической избыточной активации иммунных клеток мозга — микроглии (макрофаги) [47]. Мощным ее индуктором может быть Аβ, который сти-

мулирует синтез микроглией свободных радикалов и медиаторов воспаления (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , хемокины, в том числе -IL-8, белки-аттрактанты, компонент комплемента C3, NO), вызывает активацию NF- $\kappa$ B, нейромедиатора глутамата и ОС. В свою очередь, ОС способствует увеличению синтеза А $\beta$  и является важным фактором патогенеза БА [19]. Механизмы активации микроглии, вызванной А $\beta$ , активно изучаются – обсуждается участие митоген-активируемой протеинкиназы p38 (p38 MAPK), Р распознавания образов патогенности и, в частности, Toll-подобных Р [21]. Кроме того, увеличение содержания олигомерного А $\beta$  в ГМ дозозависимо коррелирует с потерей нейронов, воспалительным ответом астроцитов (клетки мозга, обеспечивающие опорную, питательную, репаративную функции) и фосфорилированием тау, также являющимися медиаторами нейротоксичности А $\beta$ , у трансгенных мышей APP/Tau [21].

Таким образом, А $\beta$  запускает нейровоспаление, которое, в свою очередь, увеличивает его продукцию [19]. Надо отметить, что попытки создания препаратов для терапии БА, влияющих на синтез А $\beta$  через ингибирование секретаз, не дали успеха в клинических исследованиях II и III фаз [25]. Важно, что А $\beta$  является антимикробным белком и важным элементом системы врожденной иммунной защиты и при реактивации латентных инфекций синтез А $\beta$  возрастает, что может способствовать нейровоспалению, а в дальнейшем – образованию сенильных бляшек [7]. Предполагают, что запускать ОС и нейровоспаление могут также тяжелые металлы и пестициды.

В настоящее время большое внимание в развитии БА уделяется патологическим изменениям Тау-белка, который относится к семейству белков, ассоциированных с микротрубочками, поддерживающих форму клеток. Также сеть микротрубочек играет большую роль в аксональном транспорте и доставке митохондрий в синапсы [61]. На различных моделях БА показано, что избыток и гиперфосфорилирование Тау-белка нарушают локализацию и распределение митохондрий в клетке, что в дальнейшем вызывает дефекты функции аксонов и синапсов [61]. Гиперфосфорилированный тау (ГФТ) теряет способность стабилизировать микротрубочки и агрегирует с образованием нейрофибриллярных клубков, уровень которых коррелирует со снижением когнитивных функций. Дисфункция микротрубочек нарушает аксональный транспорт органелл, включая митохондрии, что приводит к синаптической дисфункции [58]. Предполагают, что сначала А $\beta$  инициирует Тау патологию, а затем уже ГФТ во многом определяет развитие нейродегенерации [1].

Основная функция митохондрий заключается в поддержании энергетического и окислительно-восстановительного баланса клеток и регуляции гомеостаза Ca<sup>2+</sup>. Дыхательная цепь митохондрий состоит из пяти комплексов ферментов: НАДФ-коэнзим Q-редуктаза

(комплекс I), сукцинат-коэнзим Q-редуктаза (комплекс II), убихинол-цитохром C-редуктаза (комплекс III), цитохромоксидазы (комплекс IV), и F1Fo-АТФ-синтазы (комплекс V). Комплексы I, III и IV перемещают протоны через внутреннюю мембрану для создания протонного градиента, что инициирует комплекс V синтезировать АТФ, завершая процесс окислительного фосфорилирования. Побочным продуктом дыхания является АФК. Поскольку митохондрии потребляют около 85 % общего O<sub>2</sub> и являются основным источником внутриклеточных АФК, с работой митохондрий напрямую связаны процессы клеточной смерти, одной из причин которой может быть изменение нормальной динамики этих органелл [18].

Состояние митохондрий динамично: в нейронах они делятся, сливаются, перемещаются внутри клетки, а дефектные митохондрии разрушаются [63]. Изменение числа и положения митохондрий в клетке помогает нейронам адаптироваться к необходимому изменению функций и потребности в энергии. Транспорт митохондрий в аксон является реакцией на повышение потребности в энергии. Если нужно меньше энергии, число митохондрий снижается, а вслед за этим снижается и продукция АТФ. В делении митохондрий важную роль играют белки Drp1 (dynamin-related protein 1) и Dyn2 (dynamin-like protein 2). Drp1 формирует на поверхности делящейся митохондрии два кольца, но окончательное разделение их возможно только при помощи Dyn2. При недостаточной функции Drp1 не разделенные удлинённые митохондрии не могут полноценно прикрепиться к транспортным белкам [56]. Нарушение динамики митохондрий изменяет их функциональное состояние и приводит к нарушениям в работе нервной клетки.

Дисфункция митохондрий и аномальная их морфология являются характерными признаками БА [18], при которой динамический баланс деления и слияния нарушается, смещаясь в сторону неумеренного деления. Дефекты функции митохондрий проявляются снижением синтеза АТФ, увеличением продукции АФК, дефицитом антиоксидантных ферментов.

Амилоид  $\beta$  и Тау-белок способны подавлять аксональный транспорт митохондрий, приводя к нарушениям высвобождения нейромедиаторов и синаптической пластичности в нейроне. А $\beta$  и APP ингибируют активность комплекса II и IV в митохондриях, что снижает уровень АТФ и увеличивает генерацию АФК. А $\beta$  усиливает митохондриальную дисфункцию и апоптоз за счет нарушений гомеостаза Ca<sup>2+</sup>, проницаемости мембран митохондрий, открытия пор и усиления высвобождения провоспалительных ИЛ. APP также может нарушать гомеостаз Ca<sup>2+</sup>, приводя к апоптозу митохондрий. Избыточные количества АФК могут вызывать мутации митохондриальной ДНК, ее повреждение, что является важным звеном патогенеза БА. В ГМ пациентов с БА обнаружено, что олигомерные формы А $\beta$  взаимодействуют с динамин-подобным белком-1

(Drp1), ключевым белком, участвующим в процессе деления митохондрий. ГФТ и олигомерный Аβ повышают нитрозилирование Drp1, приводя к усилению деления и избыточной фрагментации митохондрий. Аβ и APP ухудшают процессы их слияния, митофагию (утилизация поврежденных органелл), нарушают движения митохондрий. Кроме того, уменьшается экспрессия необходимых для этих процессов белков. Нарушение динамики в конечном итоге приводит к увеличению числа дефектных митохондрий, снижению их клиренса и гибели части митохондрий, что снижает энергообеспечение нейронов, способствует ОС и нейродегенерации [38].

Патологические формы Тау-белка также нарушают функцию митохондрий. На клеточных культурах и трансгенных мышах было показано, что сверхэкспрессия тау ингибирует функцию митохондрий, уменьшая активность антиоксидантных ферментов и нарушая синтез АТФ. Избыточная экспрессия Тау и ГФТ нарушают локализацию и распределение митохондрий – аномальное фосфорилирование Тау в сайтах AT8 (Ser199, Ser202 и Thr205) ингибирует движение митохондрий, нарушает их распределение вдоль аксонов корковых нейронов, транспорт в аксоны и синапсы, что способствует дегенерации аксонов. При уменьшении числа аксональных митохондрий нарушается динамическое равновесие Тау с микротрубочками в аксонах, которое в свою очередь, усиливает фосфорилирование Тау-белка. Также стало известно, что ГФТ нарушает и транспорт белка-предшественника амилоида (APP), что указывает на возможную связь между этими важными факторами патогенеза БА.

Кроме того, ГФТ ингибирует ассоциацию белка деления Drp1 с митохондриями, что вызывает патологическое удлинение митохондрий. Аβ и APP снижают экспрессию PGC-1α, уменьшая биогенез митохондрий, содержание в них ДНК и усиливая процессы нейродегенерации. Белок PGC-1α является важнейшим коактиватором пролифераторов пероксисом, регулирующих жировой и углеводный обмена, и принимает участие в координации многих метаболических реакций через взаимодействия с транскрипционными факторами и с функциональными доменами ДНК. PGC-1α активирует широкий ряд транскрипционных факторов, включающих PPAR, ядерные респираторные факторы (NRF), транскрипционный фактор А (TFAM) митохондрий, глюкокортикоидный Р, эстроген-подобный рецептор, Р эстрогенов, тиреоидных гормонов и многие другие. Помимо этого, PGC-1α является важнейшим элементом регуляторной сети, которая обеспечивает пролиферацию и метаболизм митохондрий [35]. Синаптические окончания нейронов богаты митохондриями, обеспечивающими энергию, необходимую для передачи нервных импульсов. Таким образом, избыточная экспрессия Тау и образование нейрофибрилярных клубков нарушают функцию митохондрий, главным образом, за счет снижения продукции АТФ и

усиления ОС, что приводит к синаптической дисфункции при БА [28]. Обширные исследования, проводимые *in vivo* и *in vitro*, подтверждают прямую связь между ОС и синаптической дисфункцией при БА [21].

## 5. Нейропротективное действие АК *in vitro* и *in vivo* в эксперименте

Эффекты АК, которые могут иметь отношение к воздействию на патогенетические звенья БА, были обнаружены в ряде последних экспериментальных работ. Показано, что АК уменьшает окислительное повреждение, вызванное АФК, и дисфункцию митохондрий, а также снижает активность сигнальных путей PI3K/AKT и митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) на модели нейротоксичности и апоптоза клеток гиппокампа, индуцированных гомоцистеином [62]. АК также ингибирует апоптоз, вызванный глутаматом, посредством восстановления окислительно-восстановительного баланса и уменьшения притока  $Ca^{2+}$  [31]. С. Н. Chang et al. [9] на клеточной модели первичных корковых нейронов ГМ эмбрионов крыс (Sprague-Dawley) продемонстрировали, что АК оказывает защитное действие на клетки, гибель которых индуцирована  $H_2O_2$ . Кроме того, АК в концентрации 5 мкМ заметно ослабляет супрессию нейронов клеточной культуры PC12, вызванную глутаматом и/или гомоцистеином (в том числе совместно), и уменьшает их повреждающий эффект. АК заметно уменьшал приток в нейротоксических концентрациях  $Ca^{2+}$ , вызванный глутаматом и в меньшей степени – гомоцистеином. Важно отметить, что при этом повышался уровень антиапоптотического белка Bcl2 [9]. Эксайтотоксичность глутамата и нейротоксичность гомоцистеина являются важнейшими факторами развития нейродегенерации и гибели нейронов. Другими авторами на подобной модели (культуры первичных кортикальных нейронов эмбрионов крыс обрабатывали 10 нМ и 20 нМ АК в течение 7 дней) показано, что АК прямо или опосредованно дозозависимо регулирует уровни экспрессии мРНК субъединиц NMDA (LVSCC-A1C и LVSCC-A1D) и ряда других белков. Результаты работы свидетельствуют о наличии у АК нейропротекторных эффектов (как у регулятора гомеостаза  $Ca^{2+}$ ) [2].

Известно, что введение пептидов Аβ (1 – 42) крысам линии Вистар приводит к повышению резистентности к инсулину в нейронах гиппокампа. В работе с использованием поведенческих, биохимических и морфологических методов исследований было показано, что пероральное введение АК в течение 28 дней ослабляет признаки нейродегенерации, и уменьшает резистентность к инсулину, вызванную Аβ в нейронах гиппокампа за счет уменьшения фосфорилирования инсулинового рецептора 1 в позиции Ser307. Кроме того, введение АК уменьшает фосфорилирование GSK-3β и уровень Аβ<sub>1-42</sub> в клетках гиппокампа крыс [50]. Резистентность к инсулину является одним из значимых факторов риска и патогенеза БА.



Интересными являются данные о том, что АК модулирует аутофагию, расстройства которой участвуют в патогенезе нейродегенерации, регулируя сигнальные пути, включая АМФ-активированную протеинкиназу (АМПК), клеточный гомолог онкогена akt8 вируса тимомы мыши (Akt), митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК), c-JunN-терминальную киназу (JNK) и p38 [22].

АК легко преодолевает гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), что важно для создания средств терапии нейродегенерации. В ряде экспериментальных работ было показано, что АК обладает нейропротективным эффектом при дегенеративных заболеваниях мозга, задерживая или уменьшая когнитивные нарушения, связанные с нормальным старением и с нейродегенеративной патологией [34]. АК уменьшает воспаление и ОС в гиппокампе и сетчатке у крыс с экспериментальным сахарным диабетом, вызванным стрептозотоцином а также признаки когнитивного дефицита [27]. АК ослабляет когнитивные расстройства на других моделях нейродегенеративных заболеваний *in vivo* и *in vitro*. Также показано, что АК накапливается в гиппокампе и коре ГМ крыс после однократного и повторного приема внутрь. Предварительная обработка АК способствует регенерации нервных клеток за счет увеличения экспрессии генов белков, обеспечивающих репарацию, выживание, рост и дифференцировку новых нейронов (глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), белок 2, ассоциированный с микротрубочками (MAP-2), нейротрофический фактор мозга (BDNF) и белок, ассоциированный с ростом GAP-43). Другие исследования продемонстрировали защитное действие АК на Аβ-индуцированную генерацию АФК и нарушение регуляции Ca<sup>2+</sup> в первичных нейронах гиппокампа, а также значительное снижение уровней ОС и гибели клеток в клетках PC12 после их токсического повреждения. В работе P. Lobos et al. также было показано, что прединкубация с АК (0,1 мкМ) уменьшала синтез свободных радикалов в культуре нейронов гиппокампа, вызванный добавлением Аβ [34].

Интересные результаты представили S. O. Rahman et al., при исследовании амилоидной модели БА. Крысы линии Вистар были разделены на 5 групп по 8 особей [50]. Крысам группы 1 в первый день исследования в желудочки мозга вводили искусственную спинномозговую жидкость (иСМЖ) по 4 мкл, группы 2 — вводили Аβ<sub>1-42</sub>, растворенный в иСМЖ, в концентрации 4 мкг/4мкл. Крысам групп 3 и 4 вводили Аβ в желудочки мозга в той же дозе и концентрации, и с 8 дня после инъекции Аβ они получали перорально по 0,5 и по 1 мг/кг/день АК 28 дней, соответственно. Крысам группы 5 в желудочки мозга вводили только иСМЖ, и начиная с восьмого дня они также получали АК по 1 мг/кг/день 28 дней. Когнитивные функции крыс оценивали с помощью теста Мориса и теста на распознавание нового объекта (краткосрочную память). Оказалось, что в гиппокампе животных, получающих АК, в

отличие от контроля, дозозависимо снижался уровень растворимого Аβ<sub>1-42</sub> и предотвращалось фосфорилирование субстрата инсулинового Р-1 IRS-1 (s307), опосредованное Аβ<sub>1-42</sub>. Обращает внимание, что через 28 дней применения АК в гиппокампе крыс снижались уровни ацетилхолинэстеразы, ФНО-α, нитритов, уменьшалась активность фермента GSK-3β, а также увеличивалось содержание глутатиона. Авторы сделали вывод о том, что АК подавляет воспаление и улучшает когнитивные показатели, включая краткосрочную память, у данных животных [3, 50].

К сожалению, иногда авторы называют действующее вещество АК, хотя используют экстракт микроводорослей, т.е. эфиры АК. Нередко в работах отсутствуют данные относительно формы АК и его эфиров (масляный раствор или эмульсии), а также недостаточны или отсутствуют сведения о чистоте препарата или природы примесей. Лишь в одной работе сравнивали нейропротективную активность эфиров АК и его свободной формы и показали, что эфир АК и докозагексаеновой кислоты обладает более выраженным эффектом при БА, чем АК. Эфир АК при пероральном введении 2 месяца в большей степени улучшал память и способность к обучению у мышей линии APP/PSEN1, мутантных по гену белка-предшественника Аβ и генам пресенилина 1 и 2 [67]. Кроме того, в этой работе эфир АК оказывал более выраженное антиоксидантное действие, в большей степени подавлял нейровоспаление, ГФТ и синтез инфламмасом.

## 6. Эффекты АК при нейродегенеративных заболеваниях человека

Как и в экспериментальных моделях на животных, для изучения действия АК у людей в ряде случаев использовали экстракт микроводорослей *H. pluvialis* в виде различных биологических добавок. Экстракт микроводорослей содержит моно- и диэфиры АК, в то время как содержание свободной формы не превышает 10 % от содержания всей фракции, а также другие каротиноиды, в частности лютеин. К сожалению, в исследованиях на добровольцах редко можно найти данные о чистоте препарата, его составе. Как правило, нет контрольных групп, получавших экстракт *H. pluvialis* с удаленным АК, что уменьшает значимость таких работ.

Исследовали концентрацию АК в плазме после приема капсул БАД “Астаксин” (8 мг АК) 12 недель молодыми здоровыми добровольцами. Было показано, что АК в период приема обнаруживался в плазме в концентрации 32 нмоль/л. В другой работе добровольцы среднего и пожилого возраста принимали АК в меньшей дозе (1 и 3 мг/сут) в течение того же времени (12 недель), после чего методом МС/МС спектрометрии установили наличие масс-иона этого соединения в плазме крови в количестве 4 – 10 нмоль/л. Эти результаты хорошо согласуются друг с другом, если учесть различие в возрасте добровольцев.

Исследования, в которых изучалось антиоксидантное, иммуномодулирующее и нейропротективное действие очищенного АК на человека, немногочисленны. Так, показано небольшое, но достоверное снижение степени окисленности ЛПНП в крови добровольцев, перорально принимавших 2 недели АК в различных дозах (от 2 до 14 мг/день) [20]. В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании 2020 г. исследовали эффект приема внутрь астаксантина с токотриенолом против плацебо добровольцами (средний возраст —  $55,4 \pm 7,9$  года и  $54,6 \pm 6,9$  года) с когнитивным снижением в течение 12-недель. Группа “астаксантин-токотриенол” показала значительное улучшение совокупной памяти и вербальной памяти по сравнению с группой плацебо, при этом побочных эффектов не наблюдали [53].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время накоплены убедительные экспериментальные данные о действии АК на различные этапы ОС — замедление ПОЛ, взаимодействие с синглетным кислородом, активация супероксиддисмутазы и каталазы, поддержание пула глутатиона в восстановленном состоянии. Наряду с этим он ингибирует NF-κB — важный сигнальный путь воспаления. АК также стимулирует продукцию антител и механизмы противовирусного иммунитета, уменьшает воспаление и улучшает когнитивные функции. Обнаружены положительные эффекты АК на показатели липидного и углеводного обмена, нарушения которых являются факторами риска БА. АК преодолевает ГЭБ, что важно для терапии болезней ГМ. Учитывая спектр эффектов АК (противовоспалительный, антиоксидативный и иммуномодулирующий) и современные данные о механизмах патогенеза БА, перспективным представляется дальнейшее изучение АК и его эфиров в качестве потенциального средства в комплексной терапии ранней стадии БА и профилактики когнитивных расстройств.

Работа выполнена при поддержке НИЦ “Курчатовский Институт” (Приказ № 2661 от “24” октября 2018 г.; Приказ № 1363 от 25 июня 2019 г.).

## ЛИТЕРАТУРА

1. О. Г. Татарникова, М. А. Орлов, Н. В. Бобкова, *Успехи биол. химии*, **15**(55), 351 – 390 (2015); <https://www.fbras.ru/wp-content/uploads/2017/10/Tatarnikova.pdf>.
2. M. E. Altunrende, D. Gezen-Ak, İ. L. Atasoy, et al., *Noro Psikiyatr Ars.*, **55**(4), 295 – 300 (2018); doi: 10.29399/npa.23259.
3. J. Bao, Y. A. R. Mahaman, R. Liu, et al., *Front Aging Neurosci.*, № 11, 275 (2019); doi: 10.3389/fnagi.2019.00275.
4. M. P. Barros, M. J. Rodrigo, L. Zacarias, *J. Agric. Food Chem.*, **66**(23), 5733 – 5740 (2018); doi: 10.1021/acs.jafc.8b00866.
5. A. Bernabeu-Zornoza, R. Coronel, C. Palmer, et al., *Neural Regen Res.*, **14**(12), 2035 – 2042 (2019); doi: 10.4103/1673-5374.262571.
6. J. Bieschke, M. Herbst, T. Wiglenda, et al., *Nat Chem Biol.*, **8**(1), 93 – 101 (2011); doi: 10.1038/nchembio.719.
7. K. Bourgade, A. Le Page, C. Bocti, et al., *J. Alzheimers Dis.*, № 50, 1227 – 1241(2016); doi: 10.3233/JAD-150652.
8. A. Bustamante, L. Masson, J. Velasco, et al., *Food chemistry*, № 190, 1013 – 1021 (2016); doi: 10.1016/j.foodchem.2015.06.062.
9. C. H. Chang, K. C. Chen, K. C. Liaw, et al., *Molecules*, **25**(1), 214 (2020); doi: 10.3390/molecules25010214.
10. Y. Cheng, S. Li, M. Wang, et al., *Medical Science Monitor*, № 24, 9045 – 9053 (2018); doi: 10.12659/MSM.910766.
11. C. I. Choi, *Mar Drugs*, **17**(4), 242 (2019); doi: 10.3390/md17040242.
12. R. Coronel, C. Palmer, O. Bernabeu-Splinter, et al., *Neural Regen Res.*, **14**(10), 1661 – 1671 (2019); doi: 10.4103/1673-5374.257511.
13. A. Croasdell, P. F. Duffney, N. Kim, et al., *PPAR Research*, № 2, 1 – 20 (2015); doi: 10.1155/2015/549691.
14. S. Davinelli, H. M. Melvang, L. P. Andersen, et al., *Mar Drugs*, **17**(7), piiE382 (2019); doi: 10.3390/md17070382.
15. B. De Roos, G. G. Duthie, *Mol. Nutr. Food Res.*, № 59, 1229 – 1248 (2015); doi: 10.1002/mnfr.201400568.
16. S. Fakhri, F. Abbaszadeh, L. Dargahi, et al., *Pharmacol. Res.*, № 136, 1 – 20 (2018); doi: 10.1016/j.phrs.2018.08.012.
17. S. Fakhri, L. Dargahi, F. Abbaszadeh, et al., *Eur. J. Pain.*, № 23, 750 – 764 (2019); doi: 10.1002/ejp.1342.
18. L. Guo, J. Tian, H. Du, *J. Alzheimers Dis.*, **57**(4), 1071 – 1086 (2017); doi: 10.3233/JAD-160702.
19. M. T. Heneka, M. K. O'Banion, D. Terwel, M. P. Kummer, *J. Neural Transm.*, № 117, 919 – 947 (2010); doi: 10.1007/s00702-010-0438-z.
20. T. Iwamoto, K. Hosoda, R. Hirano, et al. *J. Atheroscler. Thromb.*, **7**, 216 – 222 (2000); doi: 10.5551/jat1994.7.216.
21. P. K. Kamat, A. Kalani, S. Rai, et al., *Mol. Neurobiol.*, № 53, 648 – 661 (2016); doi: 10.1007/s12035-015-9384-y.
22. S. H. Kim, H. Kim, *Mar Drugs*, **17**(10), 546 (2019); doi: 10.3390/md17100546.
23. S. H. Kim, J. W. Lim, H. Kim, *Nutrients*, № 10, 1320 (2018); doi: 10.3390/nu10091320.
24. Y. Kishimoto, H. Yoshida, K. Kondo, *Mar Drugs.*, **14**(2), 35 (2016); doi: 10.3390/md14020035.
25. D. Kumar, A. Ganeshpurkar, D. Kumar, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, № 148, 436 – 452 (2018); doi: 10.1016/j.ejmech.2018.02.035.
26. O. Y. Kytikova, J. M. Perelman, T. P. Novgorodtseva, et al., *PPAR Res.*, № 2020, 8906968 (2020); doi: 10.1155/2020/8906968.
27. R. Landon, V. Gueguen, H. Petite, et al. *Mar Drugs*. **18**(7), 357 (2020); doi: 10.3390/md18070357.
28. X. C. Li, Y. Hu, Z. H. Wang, et al., *Sci Rep.*, № 6, 24756 (2016); doi: 10.1038/srep24756.
29. K. H. Lin, K. C. Lin, W. J. Lu, et al., *Int. J. Mol. Sci.*, **17**(1), 44 (2015); doi: 10.3390/ijms17010044.
30. C. L. Lin, Q. Kong, G. D. Cuny, et al., *Future Med. Chem.*, **4**(13), 1689 – 1700 (2012); doi: 10.4155/fmc.12.122.
31. X. Lin, Y. Zhao, S. Li, *Euro. J. Pharmacol.*, № 806, 43 – 51 (2017); doi: 10.1016/j.ejphar.2017.04.008.
32. H. C. Liu, S. J. Leu, D. M. Chuang, *J. Experim. Clin. Med.*, **4**(3), 135 – 139 (2012); doi: 10.1016/j.jecm.2012.04.001.
33. X. Liu, T. Osawa, *Biochemical and biophysical research communications*, **357**(1), 187 – 193 (2007); doi: 10.1016/j.bbrc.2007.03.120.
34. P. Lobos, B. Bruna, A. Cordova, et al., *Neural Plast.*, № 2016, 3456783 (2016); doi: 10.1155/2016/3456783.
35. X. Luo, C. Liao, J. Quan, et al., *Int. J. Cancer*, **145**(6), 1475 – 1483 (2019); doi: 10.1002/ijc.32253.
36. S. Magi, P. Castaldo, M. L. Macri, et al., *BioMed Research International.*, № 2016, 6701324 (2016); doi: 10.1155/2016/6701324.

37. B. R. Malik, D. C. Maddison, G. A. Smith, et al., *Mol. Brain*, № 12, 100 (2019); doi: 10.1186/s13041-019-0504-x.
38. M. Manczak, M. J. Calkins, P. H. Reddy, *Hum. Mol. Genet.*, **20**(13), 2495 – 2509 (2011); doi: 10.1093/hmg/ddr139.
39. J. Marsh, P. Alifragis, *Neural Regen Res.*, № 13, 616 – 623 (2018); doi: 10.4103/1673-5374.230276.
40. C. Martij, C. R. Overk, J. W. Sijben, et al., *Alzheimer's & Dementia*, **12**(6), 633 – 644 (2016); doi: 10.1016/j.jalz.2015.12.005.
41. S. Meier, F. Alfonsi, N. D. Kurniawan, et al., *Development*, № 146, dev181933 (2019); doi: 10.1242/dev.181933.
42. G. L. Menn, J. G. Neels, *Int. J. Mol. Sci.*, № 19, 1575 (2018); doi: 10.3390/ijms19061575.
43. A. Z. Mirza, I. I. Althagafi, H. Shamshad, *Eur. J. Med. Chem.*, № 166, 502 – 513 (2019); doi: 10.1016/j.ejmech.2019.01.067.
44. A. Nishino, T. Maoka, H. Yasui, *Tetrahedron Letters*, **57**(18), 1967 – 1970 (2016); doi: 10.1016/j.tetlet.2016.03.078.
45. S. P. Nobs, S. Natali, L. Pohlmeier, et al., *J. Experim. Med.*, **214**(10), 3015 – 3035 (2017); doi: 10.1084/jem.20162069.
46. M. Osterlie, B. Bjerkeng, S. Liaaen-Jensen, *The journal of nutritional biochemistry*, **11**(10), 482 – 490 (2000); doi: 10.1016/s0955-2863(00)00104-2.
47. A. Le Page, G. Dupuis, E. H. Frost, et al., *Exp. Gerontol*, № 107, 59 – 66 (2018); doi: 10.1016/j.exger.2017.12.019.
48. J. S. Park, J. H. Chyun, Y. K. Kim, et al., *Nutr. Metab (Lond)*, № 7, 18 (2010); doi: 10.1186/1743-7075-7-18.
49. D. Puzzo, O. Arancio, *J. Alzheimers Dis.*, **33**(S1), S111 – S120 (2013). doi: 10.3233/JAD-2012-129033.
50. S. O. Rahman, B. P. Panda, S. Parvez, et al., *Biomed Pharmacother.*, **110**, 47 – 58 (2019); doi: 10.1016/j.biopha.2018.11.043.
51. V. Rudajev, *J. Novotny. Membranes (Basel)*, **10**(9), 226 (2020); doi: 10.3390/membranes10090226.
52. M. Sciacca, C. Tempura, F. Scollo, et al., *Biomembranes*, **1860**(9), 1625 – 1638 (2018); doi: 10.1016/j.bbmem.2018.02.022.
53. T. Sekikawa, Y. Kizawa, Y. Li, et al., *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **67**(3), 307 – 316 (2020); doi: 10.3164/jcbn.19-116.
54. G. M. Shankar, S. Li, T. H. Mehta, et al., *Nature medicine*, № 14, 837 – 842 (2008); doi: 10.1038/nm1782.
55. H. Sies, C. Berndt, D. P. Jones, *Annu. Rev. Biochem.*, № 86, 715 – 748 (2017); doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037.
56. W. Song, J. Chen, A. Petrilli, et al., *Nat. Med.*, **17**(3), 377 – 382 (2011); doi: 10.1038/nm.2313.
57. C. Sy, C. Caris-Veyrat, C. Dufour, et al., *Food & function*, **4**(5), 698 – 712 (2013); doi: 10.1039/c3fo30334a.
58. P. Tamminen, Q. Cai, *Autophagy*, **13**(5), 982 – 984 (2017); doi: 10.1080/15548627.2017.1291114.
59. K. J. Thompson, S. Shoham, J. R. Connor, *Brain Res. Bull.*, **55**(2), 155 – 164 (2001); doi: 10.1016/S0361-9230(01)00510-X.
60. E. Tönnies, E. Trushina, *J. Alzheimers Dis.*, **57**(4), 1105 – 1121 (2017); doi: 10.3233/JAD-161088.
61. Y. Wang, E. Mandelkow, *Nat. Rev. Neurosci.*, **17**(1), 5 – 21 (2016); doi: 10.1038/nrn.2015.1.
62. X. J. Wang, W. Chen, X. T. Fu, et al., *Cell Death Discov.*, № 4, 50 (2018); doi: 10.1038/s41420-018-0114-x.
63. B. Westermann, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1817**(10), 1833 – 1838 (2012); doi: 10.1016/j.bbabi.2012.02.033.
64. J. Wojsiat, K. M. Zoltowska, K. Laskowska-Kaszub, et al., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, № 2018, (2018); doi: 10.1155/2018/6435861.
65. S. Wong, S. Ima-Nirwana, K. Chin, *Experimental and Therapeutic Medicine*, **20**, 2941 – 2952 (2020); doi: 10.3892/etm.2020.9075.
66. S. Yang, Q. Zhou, L. Yang, et al., *Journal of oleo science*, **64**(3), 243 – 253 (2015); doi: 10.5650/jos.ess14219.
67. Y. Yang, S. Hu, J. He, et al., *Medicine (Baltimore)*, **98**(42), e17557 (2019); doi: 10.1097/MD.00000000000017557.
68. J. P. Yuan, F. Chen, *Journal of agricultural and food chemistry*, **47**(9), 3656 – 3660 (1999); doi: 10.1021/jf981319u.

Поступила 09.07.19

## EFFECTS OF NATURAL ORGANIC PIGMENT ASTAXANTHIN AND PERSPECTIVES OF ITS USE IN TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

I. K. Malashenkova<sup>1,2</sup>, A. A. Selishcheva<sup>1,3</sup>, E. A. Kulikov<sup>1</sup>, D. P. Ogurtsov<sup>1,2</sup>, S. A. Krynskii<sup>1</sup>, N. Yu. Lotosh<sup>1</sup>, S. N. Moskvina<sup>1</sup>, and B. M. Velichkovskii<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Center "Kurchatov Institute", pl. Akademika Kurchatova 1, Moscow, 123182 Russia

<sup>2</sup> Federal Scientific-Clinical Center of Physico-Chemical Medicine, Federal Medico-Biological Agency of Russia, ul. Malaya Pirogovskaya 1A, Moscow, 119435 Russia

<sup>3</sup> Department of Biology, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

The review analyzes contemporary literature devoted to effects of astaxanthin (AST) carotenoid and the prospects of its use in the treatment of neurological pathology. The physicochemical characteristics of AST and proposed mechanisms of its antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory effects are described. Data on the use of AST for treating neurodegeneration are discussed in the context of the role of neuroinflammation and oxidative stress in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). Prospects of studying AST as a potential tool in the complex therapy of early pre-dementia stages of AD are substantiated.

**Keywords:** astaxanthin; Alzheimer's disease; neuroinflammation; neurodegeneracy; oxidative stress; systemic inflammation; immunity.