



Коррекция нарушений психоневрологического статуса, возникающих на фоне хронического токсического поражения головного мозга, блокаторами GPCR/cAMP- и JAK/STAT-сигнальных путей

Т. Ю. Полякова^{1,2}✉, Л. А. Мирошниченко¹, А. В. Чайковский¹,
М. В. Белоусов², В. И. Агафонов^{1,2}, Г. Н. Зюзьков¹

¹ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е. Д. Гольдберга. Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. 634028, Россия, г. Томск, пр. Ленина, д. 3.

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России). 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, д. 2

✉ Контактное лицо: Полякова Татьяна Юрьевна. E-mail: tasha93@mail.ru

ORCID: Т. Ю. Полякова – <https://orcid.org/0000-0003-0971-7844>;

Л. А. Мирошниченко – <https://orcid.org/0000-0002-3684-5510>;

А. В. Чайковский – <https://orcid.org/0000-0003-4398-9122>;

М. В. Белоусов – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>;

В. И. Агафонов – <https://orcid.org/0000-0001-9800-0487>;

Г. Н. Зюзьков – <https://orcid.org/0000-0003-0384-333X>.

Статья поступила: 06.03.2024

Статья принята в печать: 10.12.2025

Статья опубликована: 12.12.2025

Резюме

Введение. Нарушения в функционировании ЦНС, возникающие при хроническом употреблении этанола, часто связаны с угнетением полноценного нейрогенеза. При этом одними из ведущих сигнальных каскадов, задействованных в регуляции пролиферации и дифференцировки нейральных и нейрональных стволовых клеток, считаются GPCR/cAMP-зависимый путь и JAK/STAT-сигналинг. Очевидно, что поиск принципиально новых подходов к терапии этаноловой нейродегенерации, путем воздействия на внутриклеточные сигнальные молекулы, весьма актуален и востребован для практической медицины.

Цель. Целью данного исследования явилось изучение влияния ингибиторов JAK/STAT и GPCR/cAMP на психоневрологический статус мышей, состояния стволовых клеток нервной ткани и секрецию нейротрофинов глией в условиях хронического токсического поражения головного мозга.

Материал и методы. Исследования проведены на 90 мышах линии C57BL/6. Алкогольную нейродегенерацию моделировали введением *per os* 30%-го раствора C₂H₅OH в дозе 3 г/кг/сут в течение 8 недель. Ингибиторы JAK/STAT и GPCR/cAMP вводили подкожно 1 раз в сутки в течение 7 дней в дозе 15 и 10 мкг/кг соответственно. Психофармакологические эффекты блокаторов оценивали в тесте «Открытое поле» и по степени сохранности условного рефлекса пассивного избегания. Культуральными методами изучали содержание нейральных стволовых клеток и коммитированных нейрональных предшественников в субвентрикулярной зоне головного мозга, их пролиферативную активность и интенсивность созревания, исследовали продукцию нейротрофных факторов клетками глии.

Результаты и обсуждение. Введение ингибиторов JAK/STAT и GPCR/cAMP корригировало функциональные признаки патологии мозга алкогольного генеза (наблюдалась отмена изменений ориентировочно-исследовательского поведения). При этом курсовое применение ингибитора GPCR/cAMP нивелировало, а введение блокатора JAK/STAT усугубляло снижение уровня воспроизведения условного рефлекса пассивного избегания у алкоголизованных мышей. В группах животных, получавших ингибиторы JAK/STAT и GPCR/cAMP, отмечалось возрастание числа нейральных стволовых клеток и коммитированных нейрональных предшественников, сопровождающееся повышением их митотической активности и интенсивности специализации. Введение ингибитора GPCR/cAMP после моделирования этанолиндуцированного поражения головного мозга сопровождалось повышением секреции нейротрофинов астроцитами и микроглией.

Заключение. Полученные результаты указывают на перспективность разработки нового подхода к терапии хронического алкогольного поражения головного мозга путем таргетного воздействия на отдельные звенья системы внутриклеточной сигнальной трансдукции, в частности применение ингибиторов GPCR/cAMP.

Ключевые слова: токсическое поражение головного мозга, этанол, ингибитор JAC/STAT, ингибитор GPCR/cAMP, нейротрофины, нейральные стволовые клетки, церебропротекторные средства

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Т. Ю. Полякова, Л. А. Мирошниченко и А. В. Чайковский проработали литературные источники, провели экспериментальное исследование и статистическую обработку результатов, участвовали в написании текста статьи. М. В. Белоусов, В. И. Агафонов участвовали в написании и утверждении текста статьи. Г. Н. Зюзков разработал дизайн эксперимента, провел окончательную корректировку статьи.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме FGWM-2022-0018.

Для цитирования: Полякова Т. Ю., Мирошниченко Л. А., Чайковский А. В., Белоусов М. В., Агафонов В. И., Зюзков Г. Н. Коррекция нарушений психоневрологического статуса, возникающих на фоне хронического токсического поражения головного мозга, блокаторами GPCR/cAMP- и JAC/STAT-сигнальных путей. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2026;15(1):192–201. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2045>

Correction of psychoneurological disorders arising against the background of chronic toxic brain damage with inhibitors of GPCR/cAMP and JAC/STAT signaling pathways

Tatiana Yu. Polyakova^{1,2}✉, Larisa A. Miroshnichenko¹, Alexander V. Chaikovskii¹, Mikhail V. Belousov², Vladimir I. Agafonov^{1,2}, Gleb N. Zyuz'kov¹

¹ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (GRIPRM). Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences. 3, prospekt Lenina, Tomsk, 634028, Russia

² Siberian State Medical University, SSMU. 2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia

✉ **Corresponding author:** Tatiana Yu. Polyakova. **E-mail:** tasha93@mail.ru

ORCID: Tatiana Yu. Polyakova – <https://orcid.org/0000-0003-0971-7844>;

Larisa A. Miroshnichenko – <https://orcid.org/0000-0002-3684-5510>;

Alexander V. Chaikovskii – <https://orcid.org/0000-0003-4398-9122>;

Mikhail V. Belousov – <https://orcid.org/0000-0002-2153-7945>;

Vladimir I. Agafonov – <https://orcid.org/0000-0001-9800-0487>;

Gleb N. Zyuz'kov – <https://orcid.org/0000-0003-0384-333X>.

Received: 06.03.2024

Accepted: 10.12.2025

Published: 12.12.2025

Abstract

Introduction. Impaired central nervous system function resulting from chronic ethanol consumption is often associated with suppressed neurogenesis. The GPCR/cAMP-dependent pathway and JAK/STAT signaling are considered to be among the key signaling cascades involved in regulating the proliferation and differentiation of neural and neuronal stem cells. Clearly, the search for fundamentally new approaches to treating ethanol-induced neurodegeneration by targeting intracellular signaling molecules is highly relevant and in demand in practical medicine.

Aim. The aim of this study was to investigate the effect of JAC/STAT and GPCR/cAMP inhibitors on the psychoneurological status of mice, the state of neural stem cells, and the secretion of neurotrophins by glia under conditions of chronic toxic brain injury.

Material and methods. The studies were conducted on 90 C57BL/6 mice. Alcohol-induced neurodegeneration was modeled by *per os* administration of 30% C₂H₅OH solution at a dose of 3 g/kg/day for 8 weeks. JAC/STAT and GPCR/cAMP inhibitors were administered subcutaneously once a day for 7 days at a dose of 15 and 10 µg/kg, respectively. The psychopharmacological effects of the blockers were assessed in the open field test and by the degree of preservation of the conditioned passive avoidance reflex. The content of neural stem cells and committed neuronal precursors in the subventricular zone of the brain, their proliferative activity and maturation intensity were studied using cultural methods; the production of neurotrophic factors by glial cells was investigated.

Results and discussion. The introduction of JAC/STAT and GPCR/cAMP inhibitors corrected the functional signs of alcoholic brain pathology (changes in exploratory behavior were abolished). At the same time, the course use of a GPCR/cAMP inhibitor leveled out, and the introduction of a JAC/STAT blocker aggravated the decrease in the level of reproduction of the conditioned passive avoidance reflex in alcoholized mice. In the groups of animals receiving JAC/STAT and GPCR/cAMP inhibitors, an increase in the number of neural stem cells and committed neuronal precursors was observed, accompanied by an increase in their mitotic activity and intensity of specialization. The introduction of a GPCR/cAMP inhibitor after modeling ethanol-induced brain damage was accompanied by an increase in the secretion of neurotrophins by astrocytes and microglia.

Conclusion. The obtained results indicate the prospects of developing a new approach to the treatment of chronic alcohol-induced brain damage by targeting individual links in the intracellular signal transduction system, in particular, the use of GPCR/cAMP inhibitors.

Keywords: toxic brain damage, ethanol, JAC/STAT inhibitor, GPCR/cAMP inhibitor, neurotrophins, neural stem cells, cerebroprotective agents

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Tatiana Yu. Polyakova, Larisa A. Miroshnichenko and Alexander V. Chaikovskii studied literary sources, conducted an experimental study and statistical processing of the results, participated in writing the text of the article. Mikhail V. Belousov, Vladimir I. Agafonov participated in writing and approving the text of the article. Gleb N. Zyuzkov developed the design of the experiment, carried out the final correction of the article.

Funding. This work was supported by the Russian Ministry of Science and Higher Education's state assignment, Project FGWM-2022-0018.

For citation: Polyakova T. Yu., Miroshnichenko L. A., Chaikovskii A. V., Belousov M. V., Agafonov V. I., Zyuz'kov G. N. Correction of psychoneurological disorders arising against the background of chronic toxic brain damage with inhibitors of GPCR/cAMP and JAC/STAT signaling pathways. *Drug development & registration*. 2026;15(1):192–201. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2045>

ВВЕДЕНИЕ

Длительное токсическое воздействие алкоголя на головной мозг сопровождается ухудшением памяти, утратой имеющихся знаний и навыков, что вызвано реорганизацией ЦНС и изменением функциональной активности многих ее структур [1–3]. При этом церебропротекторные и ноотропные препараты способны оказывать воздействие лишь на сохранившиеся в условиях длительной интоксикации клетки нервной ткани, что, к сожалению, никак не может предупредить прогрессирующий характер поражения головного мозга [1, 4]. Исходя из этого, можно сделать заключение, что поиск принципиально новых способов лекарственного лечения этаноловой нейродегенерации, безусловно, востребован для практической медицины.

Известно, что нарушение функционирования ЦНС при употреблении этанола связано с утратой возможности полноценного нейрогенеза [5]. Фармакологическое воздействие на функциональную активность регенераторно-компетентных клеток нервной ткани с целью усиления репаративных процессов в поврежденных участках мозга является достаточно перспективным. При этом эффективность процессов клеточного обновления будет зависеть от функциональной активности прогениторных клеток и клеток глии [6], так как нейральные стволовые клетки (НСК) и коммитированные прогениторные клетки (КПН) могут образовывать нейроны *de novo* и макроглиальные клетки взамен поврежденных или погибших, а резидентные мезенхимальные прекурсоры дают начало микроглиальным клеткам [7]. Нейроглия, в свою очередь, регулирует процессы нейро-, синапто- и нейритогенеза за счет продукции ряда гуморальных факторов и образования непосредственных межклеточных контактов с прогениторами и вновь образующимися специализированными клетками [8].

Научная литература последних лет содержит обширный перечень публикаций, доказывающих возможность регуляции функций НСК и КПН путем

таргетного влияния на определенные участки внутриклеточных сигнальных путей [9]. Одними из ведущих сигнальных каскадов, задействованных в контроле пролиферативной и дифференцировочной активности нейральных и нейрональных стволовых клеток, в том числе на фоне алкогольного поражения головного мозга, считаются GPCR/cAMP-зависимый путь и JAK/STAT-сигналинг. В экспериментах *in vitro* нами показано, что блокада аденилатциклазы (AC) в нейральных стволовых клетках длительно алкоголизированных животных приводит к возрастанию их пролиферативной активности, а использование селективного ингибитора STAT стимулирует процессы пролиферации как НСК, так и КПН [10]. Таким образом, цель настоящего исследования – в условиях этанолиндукцированного поражения головного мозга изучить влияние ингибиторов JAK/STAT и GPCR/cAMP на психоневрологический статус, состояние пулов стволовых клеток нервной ткани и секрецию нейротрофинов отдельными типами нейроглиальных клеток экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа проведена на 90 мышах линии C57BL/6 в возрасте 2–2,5 месяцев, масса животных 18–20 г. Мыши относились к 1 категории (конвенциональные) и содержались в соответствии с принципами гуманного отношения к экспериментальным животным. Содержание мышей и дизайн исследования одобрены комитетом по биомедицинской этике НИИФирМ им. Е. Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН (протокол № 22501/2024 от 15.02.2024).

Хроническое токсическое поражение головного мозга моделировали внутрижелудочным введением 30%-го раствора этанола в дозе 3 г/кг/сут на протяжении 8 недель, питьевая вода в поилках заменялась на 5%-й раствор этанола. Контрольные животные получали внутрижелудочно аналогичный объем питьевой воды [11].

Ингибиторы JAK/STAT (SH-4-54 – CAS 1456632-40-8, Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мкг/кг и GPCR/cAMP (SQ 22536, Sigma-Aldrich, США) в дозе 15 мкг/кг вводили подкожно ежедневно на протяжении недели, начиная с 11 дня от момента последнего введения алкоголя. Согласно дизайну исследования день первого введения препаратов обозначаем как «1». Контрольной группе подкожно вводили аналогичный объем растворителя, которым являлся диметилсульфоксид.

Функциональные методы применялись для оценки психофармакологических влияний ингибиторов. На 3, 7, 14 и 21-е сут регистрировались параметры ориентировочно-исследовательского поведения в открытом поле (оценивали раздельно 1-ю и 2–3-ю мин), на 7, 14 и 21-е сут определялась сохранность условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), выработка которого проводилась в день, предшествующий введению ингибиторов [12].

Содержание и функциональную активность НСК и КРН оценивали путем культивирования на 3 и 7-е сут исследования нефракционированных клеток и выделенных иммуномагнитной сепарацией клеток PSA-NCAM (CD56⁺) субвентрикулярной зоны (СВЗ) больших полушарий головного мозга соответственно [13]. Нефракционированные и PSA-NCAM⁺-клетки выращивали 5 сут в питательной среде MACS Neuro Medium (Miltenyi Biotec, Германия) в CO₂-инкубаторе (37 °C, 5 % CO₂ и 100 % влажность). После инкубации в обоих случаях (при культивировании нефракционированных клеток и PSA-NCAM⁺-клеток) определяли количество колониеобразующих единиц, скорость пролиферации и темпы созревания [10].

Элементы глии (астроциты – ACSA-2⁺-клетки; олигодендроглиоциты – O4⁺-клетки; микроглию – CD11b⁺-клетки) выделяли иммуномагнитной сепарацией (Miltenyi Biotec, Германия) клеток СВЗ. С целью получения супернатантов глиальные клетки выращивали 2 сут в питательной среде MACS Neuro Medium (Miltenyi Biotec, Германия) в CO₂-инкубаторе (37 °C, 5 % CO₂ и 100 % влажность). По числу выросших нейросфер в тест-системах оценивали суммарную секреторную активность глиоцитов, то есть уровень нейротрофинов в супернатантах [14].

Статистическую обработку данных проводили с использованием STATISTICA for Windows, v. 12.0 (Stat-Soft Inc., США), применяя непараметрический U-критерий Манна – Уитни, уровень достоверности различий между группами $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У алкоголизированных животных выявлены явные нарушения психоневрологического статуса, что выразилось в значительном увеличении общей двигательной активности, в первую очередь за счет роста числа горизонтальных перемещений животных в тесте «Открытое поле» на протяжении всех сроков исследования (таблица 1). Вышеназванные изменения были зафиксированы в первый (на 3, 7, 14, 21-е сут) и во второй (на 3, 7, 21-е сут) периоды исследования. Также отмечалось значительное ухудшение воспроизведения УРПИ на протяжении всех сроков оценки (минимальное снижение до 42,7 % от исходного значения у интактных животных на 21-е сут эксперимента) (таблица 2).

Таблица 1. Ориентировочно-исследовательские параметры в «Открытом поле» у интактных мышей линии C57BL/6 (1); у контрольных животных на фоне длительного введения этанола (2); у мышей с подкожным введением ингибитора JAC/STAT (3) и ингибитора GPCR/cAMP (4) в условиях алкогольного поражения головного мозга, в усл. ед. ($m \pm SEM$)

Table 1. Orientation and exploratory parameters in the open field in intact C57BL/6 mice (1); in control animals against the background of long-term ethanol administration (2); in mice with subcutaneous administration of a JAC/STAT inhibitor (3) and a GPCR/cAMP inhibitor (4) under conditions of alcohol-induced brain damage, arb. units ($m \pm SEM$)

Группы животных Groups of animals	Суммарная двигательная активность Total locomotor activity	Горизонтальная активность Horizontal activity	Вертикальная активность Vertical activity	Норковый рефлекс Hole-board exploration	Груминг Self-grooming
3-и сут 3rd day					
В первый период исследования (1 мин) During the first period of the study (1 min)					
1	14,79 ± 2,34	8,23 ± 1,62	2,23 ± 0,41	3,17 ± 0,70	0,13 ± 0,08
2	37,25 ± 4,15*	26,27 ± 1,85*	5,43 ± 0,5*	5,40 ± 0,92	0,33 ± 0,26
3	41,31 ± 2,84*	28,54 ± 2,09*	4,76 ± 0,39*	7,31 ± 0,31*	0,40 ± 0,03
4	38,2 ± 4,36*	26,1 ± 1,24*	5,23 ± 0,54*	5,47 ± 0,75	0,13 ± 0,07
Во второй период исследования (2–3 мин) During the second period of the study (2–3 min)					
1	38,43 ± 3,37	21,5 ± 2,71	3,05 ± 0,59	11,43 ± 2,89	0,53 ± 0,09
2	56,34 ± 5,32*	34,57 ± 4,41*	5,23 ± 0,53*	13,80 ± 2,31	0,27 ± 0,15

Группы животных Groups of animals	Суммарная двигательная активность Total locomotor activity	Горизонтальная активность Horizontal activity	Вертикальная активность Vertical activity	Норковый рефлекс Hole-board exploration	Груминг Self-grooming
3	55,46 ± 2,67*	32,89 ± 2,33*	5,73 ± 0,31*	14,24 ± 1,32	0,59 ± 0,04
4	54,24 ± 2,88*	31,17 ± 3,12*	5,57 ± 0,50*	15,78 ± 2,95	0,33 ± 0,11
7-е сут Day 7					
В первый период исследования (1 мин) During the first period of the study (1 min)					
1	20,5 ± 2,35	15,77 ± 1,70	1,70 ± 0,40	1,68 ± 0,50	0,59 ± 0,26
2	29,39 ± 2,14*	22,48 ± 1,88*	2,95 ± 1,02	2,89 ± 0,98	0,42 ± 0,15
3	30,77 ± 3,29*	23,84 ± 2,54*	4,46 ± 0,69*	1,31 ± 0,61	0,21 ± 0,09
4	21,37 ± 2,45#	15,97 ± 1,45#	2,10 ± 0,69	2,07 ± 0,48	0,26 ± 0,12
Во второй период исследования (2–3 мин) During the second period of the study (2–3 min)					
1	17,39 ± 1,94	11,89 ± 1,49	2,14 ± 0,29	1,63 ± 0,48	0,59 ± 0,39
2	32,6 ± 3,07*	20,90 ± 3,16*	4,58 ± 0,7*	2,97 ± 1,0	0,45 ± 0,16
3	28,61 ± 3,16*	18,67 ± 2,69*	4,41 ± 0,87*	3,67 ± 0,85*	0,29 ± 0,16
4	22,77 ± 2,15#	15,17 ± 1,87#	2,37 ± 0,89	2,07 ± 0,49	0,37 ± 0,17
14-е сут Day 14					
В первый период исследования (1 мин) During the first period of the study (1 min)					
1	20,37 ± 2,01	15,11 ± 1,88	2,37 ± 0,41	2,07 ± 0,41	0,13 ± 0,09
2	27,16 ± 1,86*	22,3 ± 2,18*	2,20 ± 0,48	2,83 ± 0,68	0,19 ± 0,12
3	28,43 ± 3,41*	21,31 ± 2,89*	2,21 ± 0,47	3,00 ± 0,72	0,43 ± 0,26
4	21,54 ± 2,33#	16,27 ± 2,77#	2,27 ± 0,49	1,77 ± 0,30	0,13 ± 0,09
Во второй период исследования (2–3 мин) During the second period of the study (2–3 min)					
1	25,65 ± 2,39	17,7 ± 2,31	4,34 ± 0,88	1,99 ± 0,47	0,47 ± 0,19
2	26,27 ± 2,31	18,90 ± 2,43	2,43 ± 0,58	3,83 ± 1,08	0,39 ± 0,18
3	27,85 ± 4,57	20,22 ± 3,53	3,34 ± 0,81	2,69 ± 0,68	0,49 ± 0,24
4	27,21 ± 3,97	19,27 ± 4,4	3,18 ± 0,87	2,69 ± 0,48	0,57 ± 0,21
21-е сут 21st day					
В первый период исследования (1 мин) During the first period of the study (1 min)					
1	16,39 ± 1,31	13,43 ± 1,19	1,39 ± 0,51	0,97 ± 0,39	0,08 ± 0,06
2	22,96 ± 1,29*	19,31 ± 1,41*	1,40 ± 0,35	0,93 ± 0,20	0,38 ± 0,17
3	23,36 ± 3,13*	18,28 ± 1,79*	1,79 ± 0,39	1,75 ± 0,51	0,09 ± 0,07
4	18,63 ± 1,47	14,1 ± 1,56	1,31 ± 0,53	0,97 ± 0,35	0,12 ± 0,08
Во второй период исследования (2–3 мин) During the second period of the study (2–3 min)					
1	17,09 ± 1,61	10,18 ± 1,31	2,86 ± 0,91	2,14 ± 0,49	0,8 ± 0,31
2	23,47 ± 2,04*	17,09 ± 2,13*	1,60 ± 0,41	1,39 ± 0,61	1,33 ± 0,37
3	15,44 ± 3,88#	10,14 ± 2,62#	1,77 ± 0,68	2,15 ± 0,71	0,69 ± 0,29
4	14,14 ± 1,47#	8,87 ± 1,51#	1,80 ± 0,45	1,47 ± 0,32	1,07 ± 0,34

Примечание. * Присутствуют достоверные различия показателей с аналогичными у интактных животных (группа 1) при $p < 0,05$.

Присутствуют достоверные различия показателей с аналогичными у животных с этанолиндуцированным поражением головного мозга (группа 2) при $p < 0,05$.

Note. * There are significant differences between the parameters and those in intact animals (Group 1) at $p < 0.05$.

There are significant differences between the parameters and those in animals with ethanol-induced brain damage (Group 2) at $p < 0.05$.

Таблица 2. Функциональные параметры условного рефлекса пассивного избегания у интактных мышей линии C57BL/6 (1); у контрольных животных на фоне длительного введения этанола (2); у мышей с подкожным введением ингибитора JAC/STAT (3) и ингибитора GPCR/cAMP (4) в условиях алкогольного поражения головного мозга ($m \pm SEM$)

Table 2. Functional parameters of the conditioned passive avoidance reflex in intact C57BL/6 mice (1); in control animals with long-term ethanol administration (2); in mice with subcutaneous administration of a JAC/STAT inhibitor (3) and a GPCR/cAMP inhibitor (4) under conditions of alcohol-induced brain damage, ($m \pm SEM$)

Группы наблюдения Observation groups	Число животных с сохранившимся рефлексом, % Number of animals with preserved reflex, %		
	7-е сутки Day 7	14-е сутки Day 14	21-е сутки 21st day
1	93,23 \pm 4,53	66,57 \pm 5,65	53,43 \pm 4,16
2	66,77 \pm 6,65*	33,43 \pm 6,85*	23,43 \pm 5,75*
3	69,56 \pm 5,63	37,7 \pm 5,85	0
4	86,77 \pm 6,22#	56,77 \pm 6,35#	43,43 \pm 6,30#

Примечание.* Присутствуют достоверные различия показателей с аналогичными у интактных животных (группа 1) при $p < 0,05$.

Присутствуют достоверные различия показателей с аналогичными у животных с алкогольным поражением головного мозга (группа 2) при $p < 0,05$.

Note. * There are significant differences between the parameters and those in intact animals (Group 1) at $p < 0.05$.

There are significant differences between the parameters and those in animals with alcohol-induced brain damage (Group 2) at $p < 0.05$.

Представленные данные доказывают возникновение выраженной тревожности у животных на фоне длительного введения этанола (оценка двигательной активности в первую минуту наблюдения в «Открытом поле») и когнитивной дисфункции (оценка УРПИ и двигательной активности во 2–3-ю мин наблюдения в «Открытом поле»).

Таким образом, длительное введение алкоголя вызывает долго сохраняющиеся тяжелые функциональные расстройства ЦНС, соответствующие картине токсического поражения головного мозга [15].

Под влиянием ингибитора SH-4-54 не наблюдалось изменений ориентировочно-исследовательского поведения мышей на 3, 7 и 14-е сут эксперимента, высокий уровень их двигательной активности сохранялся за счет роста числа горизонтальных перемещений (см. таблицу 1). При этом на 21-е сут опыта на 2–3-й мин оценки фиксировалось уменьшение числа перемещений, что, с одной стороны, подтверждает высокую возбудимость животных, а с другой стороны – восстановление когнитивных способностей.

Уровень воспроизведения УРПИ на фоне получения блокатора SH-4-54 у животных с алкогольной нейродегенерацией значительно снижался (см. таблицу 2). Данный факт может быть связан с особенностями постановки эксперимента, так как ингибитор начинал вводиться уже через сутки после выработки УРПИ, что дает возможность изучать эффект фармакологического вещества на консолидацию и воспроизведение памятного следа [12]. Вероятно, именно эти процессы пострадали в первую очередь под воздействием ингибитора сигнальной молекулы JAC/STAT, что и проявилось прогрессирующим расстройством мнестической функции головного мозга.

Введение ингибитора SQ 22536 значительно корригировало проявления функциональных признаков патологии мозга алкогольного генеза (см. таблицы 1, 2). Наблюдалась отмена нарушений эксплоративного поведения мышей на 7 и 21-е сут как в первый, так и во второй период исследования (см. таблицу 1). Также на 14-е сут восстанавливалась общая двигательная и горизонтальная активность животных в тесте, но исключительно в первую минуту исследования. Кроме того, курсовое применение ингибитора SQ 22536 отменяло снижение уровня воспроизведения УРПИ у алкоголизованных мышей (см. таблицу 2). Весь период наблюдения статистически значимых различий этого показателя у леченных данным ингибитором мышей с таковым у интактных животных не регистрировалось.

Длительное введение этанола экспериментальным животным *per os* приводило к выраженному снижению содержания в СВЗ как мультипотентных НСК (до 62,1%), так и коммитированных прогениторов (до 49,7%) на 3-и сут по сравнению с интактными мышами (рисунки 1, 2). Данная картина явилась отражением снижения пролиферативного индекса обоих типов стволовых клеток нервной ткани (КПН – в 1,5 раза, НСК – в 2,6 раза в сравнении с интактом) на 3-и сут опыта (рисунки 1, 2). В то же время на 7-е сут отмечался рост числа НСК в синтетическом периоде митоза (до 135,6% от уровня этого показателя у интактных мышей). Этанолиндуцированное поражение сопровождалось снижением скорости дифференцировки мультипотентных НСК на 3-и сут до 76,7% и возрастанием данного показателя на 7-е сут до 124,7% от уровня контрольных животных.

При этом было зафиксировано отсутствие изменений скорости специализации коммитированных предшественников нейронов (см. рисунки 1, 2). Таким образом, результаты экспериментов указывают на выраженную недостаточность и несбалансированность систем клеточного обновления ЦНС при хронической алкоголизации.

Оценка нейрорегенераторных возможностей ингибитора SH-4-54 в условиях моделирования этанолиндуцированной патологии мозга выявила рост числа НСК в СВЗ головного мозга на 3, 7-е сут до 124,0 и 143,9% соответственно от данных значений у мышей без лечения. Обнаруженные изменения можно

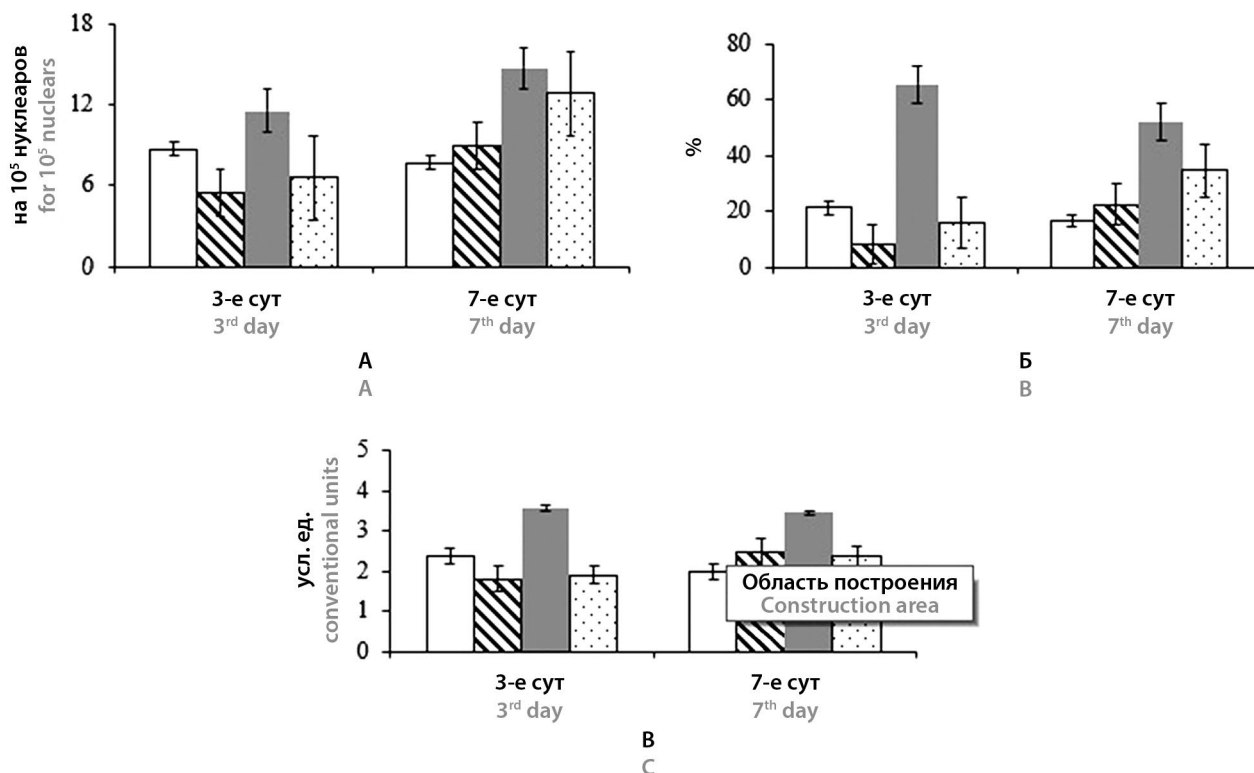


Рисунок 1. Содержание нейральных клеток-предшественников в паравентрикулярной области головного мозга мышей линии C57BL/6 (А), их количество в S-фазе клеточного цикла (В) и индекс дифференцировки (С): белые столбики – intactные мыши; заштрихованные столбики – мыши после моделирования этанолиндукцированного поражения головного мозга; серые столбики – мыши, получавшие ингибитор SQ 22536; столбики с точками – мыши, получавшие ингибитор SH-4-54 на фоне моделирования этанолиндукцированного поражения головного мозга. По оси абсцисс – сроки исследования (сут); по оси ординат – значения показателя:

А – $\times 10^5$ нуклеаров; В – в %; С – в усл. ед. Доверительные интервалы при $P \leq 0,05$

Figure 1. Count of neural progenitor cells in the paraventricular region of the brain of C57BL/6 mice (A), their number in S-phase of the cell cycle (B) and differentiation index (C): white bars – intact mice; hatched bars – mice with alcohol-induced brain damage; grey bars – mice treated with a SQ 22536 inhibitor; bars with dots – mice treated with a SH-4-54 inhibitor against the background of modeling of alcohol-induced brain damage. The abscissa axis shows the study time (days); the ordinate axis – the values of the indicator:

A – per $\times 10^5$ nuclear cells; B – in %; C – in conventional units. Confidence intervals at $P \leq 0.05$

считать результатом выраженного усиления пролиферативной активности НСК. Число мультипотентных стволовых клеток в синтетическом периоде митоза достигало 195,7 и 153,3 % соответственно по сравнению с животными, не получавшими ингибиторов сигнальной трансдукции (рисунок 1, Б). В то же время нами было зафиксировано отсутствие значимых изменений скорости дифференцировки нейральных стволовых клеток, а также отсутствие количественных и функциональных изменений (уровень пролиферации и дифференцировки) в отделе коммитированных нейрональных прекурсоров на фоне блокады JAC/STAT-сигналинга у алкоголизированных животных (рисунок 2, А, Б, В).

В группе животных, получавших ингибитор SQ 22536, напротив, отмечалось существенное возрастание числа как НСК до 213 и 164,5 %, так и КПН

до 440 и 161 % в СВЗ на 3, 7-е сут наблюдения соответственно по сравнению с алкоголизированными животными (рисунок 1, А и 2, А). В основе выявленного феномена лежало повышение их митотической активности. Количество НСК и КПН в S-фазе клеточного цикла было наибольшим на 3-и сут исследования (до 799,3 и 352,4 % от аналогичных показателей у нелеченых мышей соответственно) (рисунок 1, Б и 2, Б). Также значительно увеличивалась интенсивность специализации НСК на 3, 7-е сут наблюдения (с максимумом до 151,7 % от intactного контроля на 3-и сут) (рисунок 1, С). Изменений скорости созревания КПН при этом не регистрировалось (рисунок 2, С).

Моделирование алкогольного поражения головного мозга сопровождалось увеличением продукции нейротрофинов, стимулирующих функции прогениторов нервной ткани, астроцитами и олигодендроци-

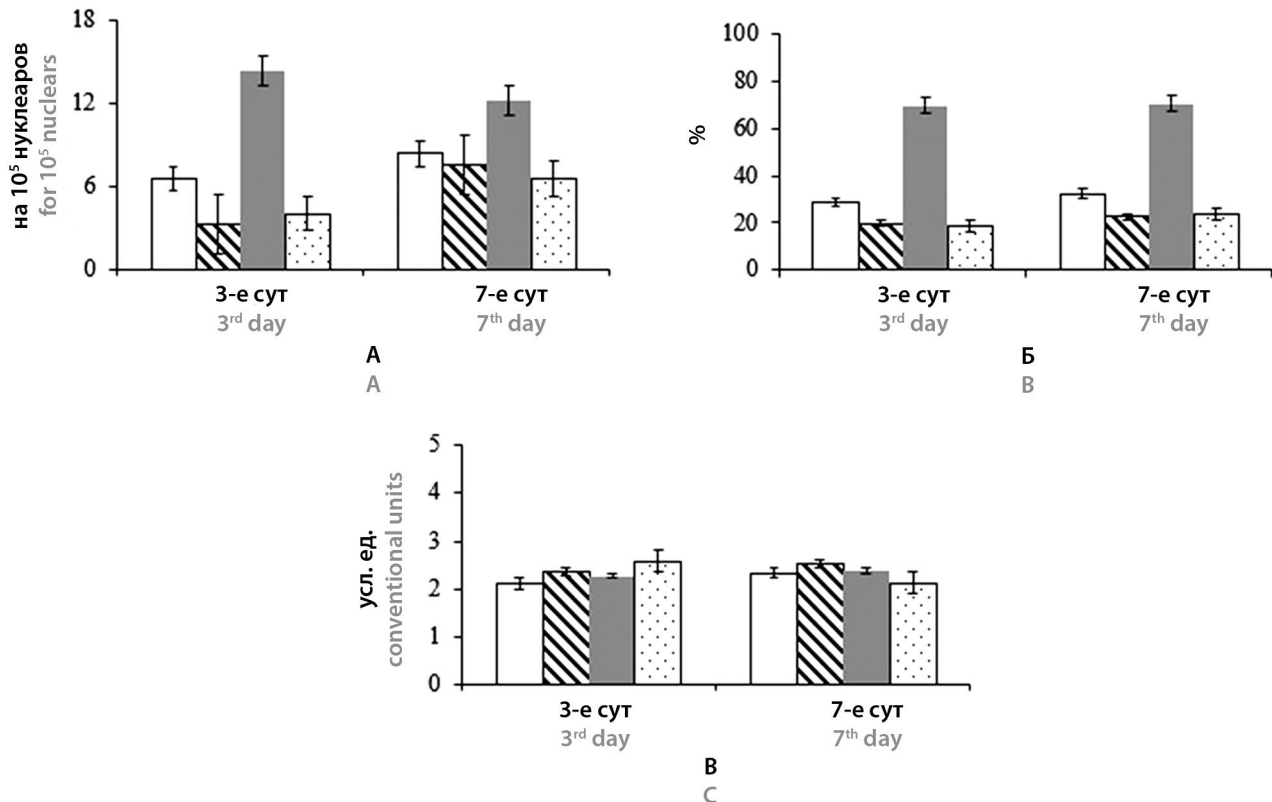


Рисунок 2. Содержание нейрональных коммитированных клеток-предшественников в паравентрикулярной области головного мозга мышей линии C57BL/6 (A), их количество в S-фазе клеточного цикла (B) и индекс дифференцировки (C): белые столбики – интактные мыши; заштрихованные столбики – мыши после моделирования этанолиндукцированного поражения головного мозга; серые столбики – мыши, получавшие ингибитор SQ 22536; столбики с точками – мыши, получавшие ингибитор SH-4-54 на фоне моделирования этанолиндукцированного поражения головного мозга. По оси абсцисс – сроки исследования (сут); по оси ординат – значения показателя:

A – $\times 10^5$ нуклеаров; B – в %; C – в усл. ед. Доверительные интервалы при $P \leq 0,05$

Figure 2. Count of neuronal committed progenitor cells in the paraventricular region of the brain of C57BL/6 mice (A), their number in S-phase of the cell cycle (B) and differentiation index (C): white bars – intact mice; hatched bars – mice with alcohol-induced brain damage; grey bars – mice treated with a SQ 22536 inhibitor; bars with dots – mice treated with a SH-4-54 inhibitor against the background of modeling of alcohol-induced brain damage. The abscissa axis shows the study time (days); the ordinate axis – the values of the indicator:

A – per $\times 10^5$ nuclear cells; B – in %; C – in conventional units. Confidence intervals at $P \leq 0.05$

тами на протяжении всех сроков исследования (рисунок 3). При этом уровень изменений секреторной функции был существенно более высокий (с максимумом до 228,6% от аналогичного параметра у интактных животных на 3-и сут наблюдения) у олигодендроцитов. Другая закономерность регистрировалась со стороны микроглии. Этанолиндуцированная нейродегенерация приводила к выраженному снижению продукции ростовых факторов этими иммунокомпетентными клетками (до 58,8 и 70,1% от интактного контроля на 3-и и 7-е сут исследования) (рисунок 3). Выявленные феномены, очевидно, являлись отражением компенсаторной реакции макроглии на поражение головного мозга нейротоксическим воздействием [16]. Зафиксированное падение колониеобразующей активности микроглиальных супернатантов, возможно, объясняется сдвигом секреции в сторону

наработки провоспалительных цитокинов (угнетающих пролиферацию прогениторов [17]).

Терапия животных с алкогольным поражением ингибитором SH-4-54 приводила к увеличению секреторной активности астроглии и микроглии на 3-и сут до 166,7 и 183,3% и на 7-е сут до 170,8 и 189,6% соответственно от уровня контроля (рисунок 3, A, C). Продукция нейротрофинов олигодендроцитами значимо снижалась на 3-и и 7-е сутки исследования (до 54,4 и 52,7% соответственно) по сравнению с контролем и уже не имела выраженных отличий от уровня секреции O4⁺-клетками интактных мышей (рисунок 3, B).

Введение ингибитора SQ 22536 после моделирования этанолиндукцированной нейродегенерации сопровождалось выраженным повышением секреции нейротрофических ростовых факторов астроцитами

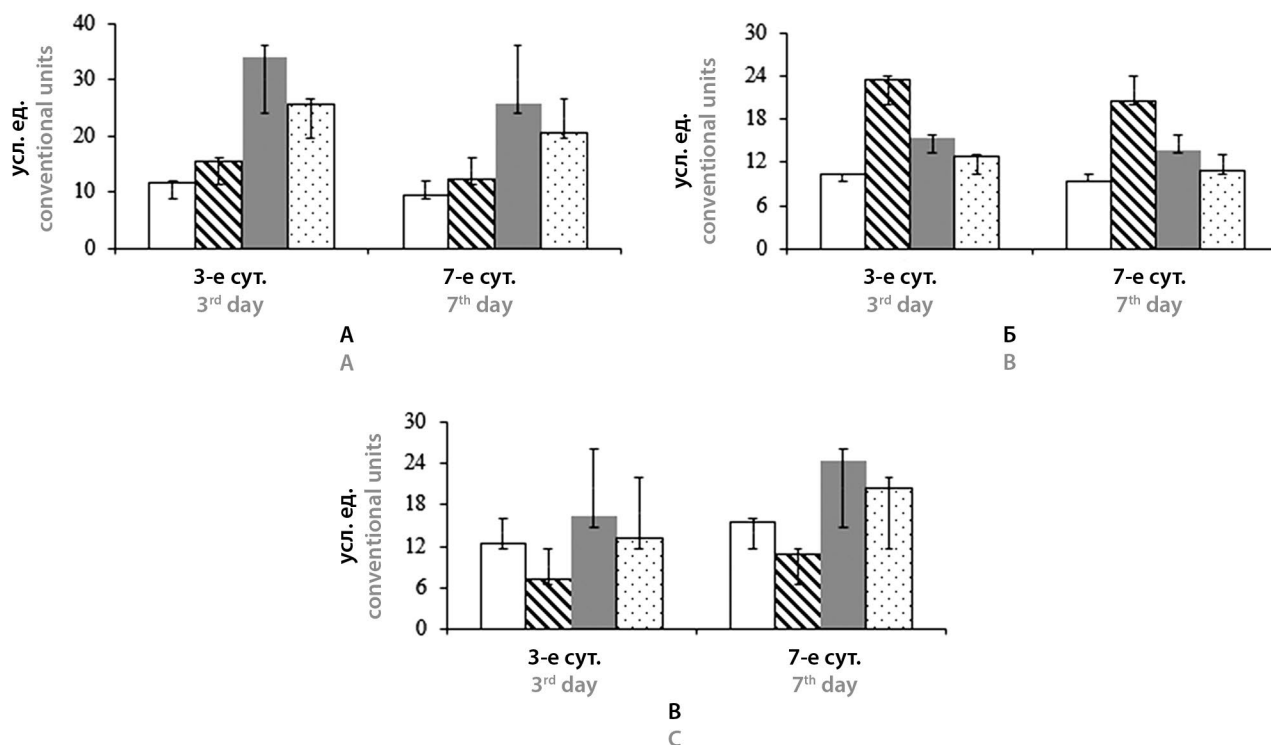


Рисунок 3. Влияние кондиционированных сред астроцитов (А); олигодендроцитов (В) и клеток микроглии (С) на уровень нейросферообразования в тест-системе: белые столбики – intactные мыши; заштрихованные столбики – мыши после моделирования этанолиндукцированного поражения головного мозга; серые столбики – мыши, получавшие ингибитор SQ 22536; столбики с точками – мыши, получавшие ингибитор SH-4-54 на фоне моделирования этанолиндукцированного поражения головного мозга. По оси абсцисс – сроки исследования (сут); по оси ординат – значения показателя ($\times 10^5$ нуклеаров). Доверительные интервалы при $P \leq 0,05$

Figure 3. Effect of conditioned media of astrocytes (A); oligodendrocytes (B) and microglial cells (C) on the level of neurosphere formation in the test system: white bars – intact mice; hatched bars – mice with alcohol-induced brain damage; grey bars – mice treated with a SQ 22536 inhibitor; bars with dots – mice treated with a SH-4-54 inhibitor against the background of modeling of alcohol-induced brain damage. The abscissa axis shows the study time (days); the ordinate axis shows the values of the indicator (per $\times 10^5$ nuclear cells). Confidence intervals at $P \leq 0.05$

и микроглией на 3-и и 7-е сут исследования. При этом наиболее существенное увеличение секреторной активности ACSA-2⁺-клетками наблюдалось на 3-и сут (до 224,4 % от контроля), а клетками микроглии – на 7-е сут (до 227,5 % от контроля) (рисунок 3, А, С). При этом секреция нейротрофинов олигодендроцитами уменьшалась на 3-и и 7-е сут (до 65,8 и 66,1 % от контроля соответственно) в сравнении с данным показателем в группе животных, не получавших блокатор SQ 22536 (рисунок 3, В).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о выраженных нарушениях в функционировании «глубокого резерва» нервной ткани (стволовых клеток) в условиях хронического алкогольного поражения головного мозга. Это обстоятельство, безусловно, препятствует процессу эффективного нейрогенеза [18].

При этом проведенные исследования свидетельствуют о принципиальной возможности восстановления

ростового потенциала прогениторов нервной ткани путем модификации в них внутриклеточной сигнализации. Так, получены данные, подтверждающие факт влияния блокатора SH-4-54 на психоневрологический статус мышей в условиях моделирования алкогольной нейродегенерации, но однозначно трактовать характер этих изменений невозможно. Это значит, что обнаруженные феномены нуждаются в дальнейшем изучении.

В то же время данные экспериментов позволяют говорить о выраженных нейропротекторных и нейрорегенеративных свойствах блокатора SQ 22536 в условиях этаноловой нейродегенерации. В этих условиях ингибирование образования cAMP ведет к быстрому восстановлению морфофункционального состояния головного мозга и нормализации целого ряда нарушений в работе ЦНС. Это касается показателей двигательной активности, исследовательского поведения, когнитивной и мнестической функций. Безусловно, ведущее значение в восстановительных процессах принадлежит именно репарации нервной

ткани, связанной с активацией резидентных мультипотентных НСК и коммитированных предшественников нейронов (относящихся к наиболее мобильному отделу тканеспецифической регенерации). Падение уровня cAMP в клетке ускоряет пролиферацию НСК и КПН, дифференцировку НСК и образование специализированных клеток *de novo* [18]. Эти изменения реализации ростового потенциала прогениторов являются результатом как прямого стимулирующего действия на них ингибитора SQ 22536, так и повышения продукции нейротрофических ростовых факторов астроцитами и микроглиальными клетками.

При этом обнаружено, что блокада cAMP в олигодендроцитах при этанолиндуцированном поражении головного мозга вызывает снижение их секреторной активности. Однако известно, что основная функция данных клеток заключается в миелинизации аксонов [19]. Поэтому, возможно, данный факт не сказался на суммарном эффекте гуморальной поддержки нейроглией прогениторов нервной ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты доказывают перспективность разработки нового таргетного подхода к терапии хронического алкогольного поражения головного мозга путем воздействия на определенные звенья внутриклеточных сигнальных каскадов, в частности применение ингибиторов GPCR/cAMP.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Livingston G., Huntley J., Sommerlad A., Ames D., Ballard C., Banerjee S., Brayne C., Burns A., Cohen-Mansfield J., Cooper C., Costafreda S. G., Dias A., Fox N., Gitlin L. N., Howard R., Kales H. C., Kivimäki M., Larson E. B., Ogunniyi A., Orgeta V., Ritchie K., Rockwood K., Sampson E. L., Samus Q., Schneider L. S., Selbæk G., Teri L., Mukadam N. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet*. 2020;396(10248):413–446. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30367-6.
- Lees B., Meredith L. R., Kirkland A. E., Bryant B. E., Squeglia L. M. Effect of alcohol use on the adolescent brain and behavior. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2020;192:172906. DOI: 10.1016/j.pbb.2020.172906.
- Mudyanselage A. W., Wijamunige B. C., Kocon A., Turner R., McLean D., Morentin B., Callado L. F., Carter W. G. Alcohol Triggers the Accumulation of Oxidatively Damaged Proteins in Neuronal Cells and Tissues. *Antioxidants*. 2024;13(5):580. DOI: 10.3390/antiox13050580.
- Gupta A., Khan H., Kaur A., Singh T. G. Novel Targets Explored in the Treatment of Alcohol Withdrawal Syndrome. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2021;20(2):158–173. DOI: 10.2174/1871527319999201118155721.
- Crews F. T., Macht V., Vetreno R. P. Epigenetic regulation of microglia and neurons by proinflammatory signaling following adolescent intermittent ethanol (AIE) exposure and in human AUD. *Advances in Drug and Alcohol Research*. 2024;4:12094. DOI: 10.3389/adar.2024.12094.
- Chang H.-M., Wu H.-C., Sun Z.-G., Lian F., Leung P. C. K. Neurotrophins and glial cell line-derived neurotrophic factor in the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Human Reproduction Update*. 2019;25(2):224–242. DOI: 10.1093/humupd/dmy047.
- Amidfar M., de Oliveira J., Kucharska E., Budni J., Kim Y.-K. The role of CREB and BDNF in neurobiology and treatment of Alzheimer's disease. *Life Sciences*. 2020;257:118020. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118020.
- Yang C.-H., Di Antonio A., Kirschen G. W., Varma P., Hsieh J., Ge S. Circuit Integration Initiation of New Hippocampal Neurons in the Adult Brain. *Cell Reports*. 2020;30(4):959–968. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.084.
- Poser S. W., Chenoweth J. G., Colantuoni C., Masjkur J., Chrousos G., Bornstein S. R., McKay R. D., Androutsellis-Theotokis A. Concise Review: Reprogramming, Behind the Scenes: Noncanonical Neural Stem Cell Signaling Pathways Reveal New, Unseen Regulators of Tissue Plasticity With Therapeutic Implications. *Stem Cells Translational Medicine*. 2015;4(11):1251–1257. DOI: 10.5966/sctm.2015-0105.
- Zyuz'kov G. N., Miroshnichenko L. A., Polyakova T. Yu., Zhdanov V. V., Simanina E. V., Stavrova L. A., Danilets M. G. Specific Features of Intracellular Signal Transduction in the Regulation of Functions of Neural Stem Cells and Committed Neuronal Progenitors. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021;170(4):522–527. DOI: 10.1007/s10517-021-05100-y.
- Bertola A. Mouse Model of Alcoholic Steatohepatitis. *Methods in Molecular Biology*. 2020;2164:145–157. DOI: 10.1007/978-1-0716-0704-6_15.
- Nesterova Yu. V., Povet'eva T. N., Suslov N. I., Zyuz'kov G. N., Zhdanov V. V., Fedorova Yu. S., Kul'pin P. V., Shaposhnikov K. V. Correction of Cholinergic Abnormalities in Mnesic Processes with Diterpene Alkaloid Songorine. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;165(1):10–13. DOI: 10.1007/s10517-018-4087-9.
- Kumar A., Pareek V., Faiq M. A., Kumar P., Kumari C., Singh H. N., Ghosh S. K. Transcriptomic analysis of the signature of neurogenesis in human hippocampus suggests restricted progenitor cell progression post-childhood. *IBRO Reports*. 2020;9:224–232. DOI: 10.1016/j.ibror.2020.08.003.
- Kantzer C. G., Boutin C., Herzig I. D., Wittwer C., Reiß S., Tiveron M. C., Drewes J., Rockel T. D., Ohlig S., Ninkovic J., Cremer H., Pennartz S., Jungblut M., Bosio A. Anti-ACSA-2 defines a novel monoclonal antibody for prospective isolation of living neonatal and adult astrocytes. *Glia*. 2017;65:990–1004. DOI: 10.1002/glia.23140.
- Visontay R., Rao R. T., Mewton L. Alcohol use and dementia: new research directions. *Current Opinion in Psychiatry*. 2021;34(2):165–170. DOI: 10.1097/YCO.0000000000000679.
- Cserép C., Pósfai B., Dénes Á. Shaping Neuronal Fate: Functional Heterogeneity of Direct Microglia-Neuron Interactions. *Neuron*. 2021;109(2):222–240. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.11.007.
- Hu Z., Deng N., Liu K., Zhou N., Sun Y., Zeng W. CNTF-STAT3-IL-6 Axis Mediates Neuroinflammatory Cascade across Schwann Cell-Neuron-Microglia. *Cell Reports*. 2020;31(7):107657. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107657.
- Cooper I. A., Beecher K., Chehrehasa F., Belmer A., Bartlett S. E. Tumour Necrosis Factor in Neuroplasticity, Neurogenesis and Alcohol Use Disorder. *Brain Plasticity*. 2020;6(1):47–66. DOI: 10.3233/BPL-190095.
- Xin W., Chan J. R. Myelin plasticity: sculpting circuits in learning and memory. *Nature Reviews Neuroscience*. 2020;21(12):682–694. DOI: 10.1038/s41583-020-00379-8.