

Нейропротекторный эффект форсколина против нейротоксического действия гомоцистеина в нейронах мозжечка и коры головного мозга крыс *in vitro*.

Научный руководитель – Антонов Сергей Михайлович

Иванова Мария Андреевна

Аспирант

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ivanova_ma@ierphb.ru

Серосодержащая аминокислота L-гомоцистеин вовлечена в патогенез многих нейродегенеративных заболеваний [1]. Ранее нами было показано, что L-гомоцистеин способен избирательно активировать рецепторы глутамата NMDA и mGluR5 типа в нейронах мозжечка и коры головного мозга крыс и чрезмерная активация данных рецепторов вызывает кальциевую дисрегуляцию, дисфункцию митохондрий и клеточную гибель по механизмам апоптоза и некроза [2].

Исследования последних лет показали, что активация циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) инициирует нейропротекторные сигнальные каскады [3]. В связи с этим интересно было изучить возможное нейропротекторное действие форсколина, способного активировать аденилатциклазу, а впоследствии увеличивать синтез цАМФ, в условиях нейротоксического действия L-гомоцистеина на нейроны мозжечка и коры головного мозга крыс и определить участников данных сигнального каскада.

Методом флуориметрического выявления апоптотических и некротических клеток [4] путем последовательного окрашивания акридиновым оранжевым и бромистым этидием нам удалось показать, что 1 мкМ форсколина предотвращал эксайтотоксическую гибель нейронов ЦНС. С использованием данного подхода, в экспериментах с ингибитором протеинкиназы А (1мкМ), блокатором протеинкиназы С (хелеритрином 0,6 мкМ) или блокатором СаМКП (KN93 3 мкМ) нам удалось определить, что в нейронах коры головного мозга в нейропротекторный эффект форсколина при долговременном (4ч) действии L-гомоцистеина (50 мкМ) вовлечены протеинкиназа А и СаМКП, в нейронах мозжечка - протеинкиназа А и протеинкиназа С.

При иммуноцитохимическом анализе экспрессии проапоптотических белков BAX, AIF, каспаза-3 и p53 было показано качественное снижение их экспрессии при действии 1 мкМ форсколина совместно с 50 мкМ L-гомоцистеина по сравнению с действием только агониста. Уровень антиапоптотического белка bcl-2 увеличивался на фоне действия 1 мкМ форсколина, тем самым подтверждая его нейропротекторный эффект.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00653.

Источники и литература

- 1) Bhatia, P., Singh, N. Homocysteine excess: delineating the possible mechanism of neurotoxicity and depression // *Fundamental and clinical pharmacology*. 2015, №29(6). p. 522-528.
- 2) Abushik, P.A., et al. Pro-nociceptive migraine mediator CGRP provides neuroprotection of sensory, cortical and cerebellar neurons via multi-kinase signaling // *Cephalalgia*. 2017, №37(14). p. 1373-1383.
- 3) Cameron, E.G., Kapiloff, M.S. Intracellular compartmentation of cAMP promotes neuroprotection and regeneration of CNS neurons // *Neural Regeneration Research*. 2017, №12(2). p. 201-202.

- 4) Mironova, E. V., Evstratova, A. A., Antonov, S. M. A fluorescence vital assay for the recognition and quantification of excitotoxic cell death by necrosis and apoptosis using confocal microscopy on neurons in culture // Journal of neuroscience methods. 2007, №163(1). p. 1-8.