

Мозговой нейротрофический фактор и его низкомолекулярные миметики

Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Поварнина П.Ю., Середенин С.Б.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

Резюме. Проведён обзор литературы по структуре и физиологическим эффектам мозгового нейротрофического фактора (BDNF). Особое внимание уделено вовлечённости BDNF в патогенез депрессии и подходам к конструированию его низкомолекулярных миметиков.

Ключевые слова: мозговой нейротрофический фактор, BDNF, низкомолекулярный миметик

Brain-derived neurotrophic factor and its low-molecular mimetics

Gudasheva T.A., Tarasiuk A.V., Povarnina P.Yu., Seredenin S.B.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. A literature overview on the structure and physiological effects of the Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has been carried out. Particular attention was paid to the involvement of BDNF in the pathogenesis of depression and approaches to its low-molecular mimetics design.

Keywords: Brain-derived neurotrophic factor, BDNF, low-molecular mimetic

Автор, ответственный за переписку:

Гудашева Татьяна Александровна – д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8; тел. +7 (495) 601-22-46; e-mail: tata-sosnovka@mail.ru

Основные функции мозгового нейротрофического фактора

Мозговой нейротрофический фактор (Brain-Derived Neurotrophic Factor, BDNF) является членом семейства нейротрофинов, группы структурно гомологичных полипептидных ростовых факторов. BDNF был впервые описан в 1987 г. [1] после выделения из экстракта головного мозга фактора, поддерживающего нейроны, не чувствительные к действию фактора роста нервов. Позднее оказалось, что оба белка гомологичны на 50%.

BDNF – белок с молекулярной массой 13,5 кДа, он состоит из 119 негликозилированных аминокислот и кодируется геном, который также носит название BDNF. В организме человека этот ген находится на 11-й хромосоме [2, 3]. BDNF играет важную роль в развитии нервной системы и поддержании её нормального функционирования во взрослом организме.

BDNF в развитии нервной системы. *Maisonpierre P.C.* с коллегами [4] охарактеризовали распределение мРНК BDNF в течение всего времени развития у крыс и обнаружили, что оно резко возрастало в период между 11-м и 12-м днями эмбрионального развития, а число транскриптов увеличивалось к 13-у дню. Данные сроки совпадают с периодом устойчивого нейрогенеза в периферической и центральной нервной системе [5, 6].

BDNF имеет решающее значение в постнатальной выживаемости, т. к. большинство BDNF -/- мышей умирают вскоре после рождения, [7, 8]. У мышей, отрицательных по BDNF гену, продемонстрированы серьёзные недостатки в развитии периферической

нервной системы, особенно афферентных нейронов [7, 8]. У BDNF -/- мышей отмечены ненормальная походка и координация движений, их поза значительно шире (расстояние между левой и правой лапой), несмотря на их меньшие размеры по сравнению с дикими мышами [9]. Это свидетельствует о важности участия BDNF в развитии и функционировании мозжечка.

BDNF в нейрогенезе. Ассоциация BDNF с нейрогенезом подтверждена в большом количестве исследований. Установлено, что внутрижелудочковое введение BDNF способствует нейрогенезу в некоторых областях мозга у крыс, например, в полосатом теле, перегородке, таламусе, гипоталамусе [10], введение BDNF в гиппокамп увеличивает число зернистых клеток в зубчатой извилине [11].

Danzer S.C. и коллеги [12] произвели трансфекцию культуры клеток гиппокампа генами BDNF или NGF; было отмечено значительное аксональное и дендритное ветвление клеток зубчатой извилины после трансфекции BDNF, но не NGF. Данный эффект исчезал после применения ингибитора тирозинкиназного Trk рецептора. Это говорит о том, что BDNF и Trk рецепторы способствуют нейрогенезу как в контексте развития, так и вне его.

BDNF и синаптическая пластичность. Хорошо установлена значимость BDNF в долговременной потенциации (long-term potentiation, LTP), которая является важным компонентом синаптической пластичности [13–15]. LTP в гиппокампе нарушена у трансгенных мышей, лишенных BDNF [16], и восстанавливается при трансфекции в клетки гиппокампа гена BDNF [17]. Снижение LTP наблюдается у крыс

с дефицитом рецепторов TrkB [18]. Введение BDNF в структуры гиппокампа крысам с удалёнными яичниками, у которых недостаток эстрогена приводит к цитоскелетной реорганизации дендритных шипиков в гиппокампе и создаёт дефицит LTP, восстанавливало LTP в гиппокампальных нейронах [19]. Вовлечённость BDNF в LTP, по крайней мере, частично обусловлена стимуляцией, экспрессии, NMDA-рецепторов. Известно, что NMDA-рецепторы играют важную роль в LTP, стимулируя приток кальция в клетку, который связывается с кальций-зависимыми протеинкиназами и активирует ряд внутриклеточных механизмов, формирующих LTP. В исследовании на культурах клеток гиппокампа и гранулярных клеток мозжечка, *Caldeira M.V.* и соавт. [20] показали, что инкубация с BDNF повышала содержание NMDA-рецепторов в гиппокампальных клетках. Они отметили корреляцию с возрастанием внутриклеточной концентрации кальция и объяснили это повышением входа кальция через дополнительные NMDA-рецепторы. Показано, что BDNF участвует в транспорте NMDA-рецепторов к мембране [20].

BDNF и когнитивные функции. Участие BDNF в нейрогенезе и синаптической пластичности предполагает важность нейротрофина для таких когнитивных функций, как обучение и память. Показано, что содержание BDNF и NGF значительно выше в дорсальном гиппокампе, который участвует в процессах памяти, чем в вентральном, вовлечённом в эмоциональное поведение [21]. У крыс в процессе обучения активируется экспрессия мРНК BDNF в гиппокампе, сопряжённая с активностью глутаматных NMDA рецепторов [22]. Введение BDNF в гиппокамп крысам ведёт к улучшению пространственной памяти в водном лабиринте Морриса [23]. С использованием трансгенных мышей было показано, что участие BDNF в процессах памяти опосредовано TrkB-рецепторами и их сигнальными путями, такими как киназы PLC- γ , ERK1/2 и транскрипционный фактор CREB [24, 25].

BDNF в патофизиологии депрессии. К настоящему времени накоплен большой объём данных, свидетельствующих о центральной роли дефицита BDNF в патогенезе депрессии.

На экспериментальных моделях депрессии было показано, что BDNF при внутримозговом введении оказывает выраженный антидепрессивный эффект [26–28]. Так, 2-кратное введение 300 нг BDNF в желудочки мозга мышам линии ASC (antidepressant sensitive catalepsy) с наследственной предрасположенностью к депрессивно-подобному поведению снижает время иммобильности в тесте подвешивания за хвост, а также восстанавливает нарушенное сексуальное поведение [29]. На этой же линии мышей BDNF при внутримозговом введении (300 нг) статистически значимо увеличивал экспрессию генов серотониновых рецепторов 2-НТ (1A), 5-НТ(1A) и 5-НТ(2A), а также функциональную активность рецептора 5-НТ(2A)

[30]. Однократное введение BDNF в гиппокамп крысам (0,25 мкг/кг в каждое полушарие) выражено предотвращало время замирания в тесте выученной беспомощности, вызванной неизбежным электрическим раздражением, и время иммобильности в тесте вынужденного плавания, причём эффект однократного введения BDNF был сравним с эффектами субхронического (7 дней) введения имипрамина или флуоксетина [26]. Антидепрессивный эффект BDNF при однократном внутримозговом введении крысам (1 мкг) в тесте вынужденного плавания был более продолжительным (сохранялся в течение 6 суток), чем эффект антидепрессантов [27].

Показано, что содержание BDNF в плазме крови снижается у людей, страдающих депрессией, и возвращается к норме после лечения их антидепрессантами [31]. Аналогичные результаты были получены и на экспериментальных моделях депрессии [32]. При посмертном анализе у жертв суицида выявляется резко сниженное содержание BDNF в префронтальной коре и гиппокампе [33]. Генетические исследования показали связь между полиморфизмом Val66Met гена BDNF и предрасположенностью к депрессии [34].

Взаимосвязь дефицита BDNF и депрессии хорошо объясняется с точки зрения нейропластической теории депрессии [35, 36], которая в последние годы находит все больше подтверждений. Согласно этой теории, депрессивные расстройства обусловлены нарушением нейропластичности гиппокампа, приводящем к снижению адаптивных способностей мозга. Действительно, посмертные исследования показали, что у людей, страдавших депрессией, снижен объём гиппокампа, а также угнетён гиппокампальный нейрогенез [37–39]. При этом снижение объёма гиппокампа у людей, страдавших депрессией, коррелирует со снижением содержания BDNF и его рецепторов TrkB в данном отделе мозга [40, 41]. Снижение объёма гиппокампа и угнетение гиппокампального нейрогенеза было показано и на *in vivo* моделях депрессии [42]. Следует отметить, что практически все применяющиеся в клинике антидепрессанты стимулируют нейрогенез в гиппокампе на экспериментальных моделях депрессии, что подтверждает важную роль нарушения нейропластичности гиппокампа в патофизиологии депрессии [43]. Хорошо известно, что ключевую роль в регуляции нейрогенеза, синаптогенеза и синаптической пластичности в гиппокампе играет BDNF [34, 44]. Угнетение BDNF-сигналинга или нейрогенеза снижает эффект антидепрессантов. Так, у трансгенных мышей с дефицитом BDNF или TrkB рецепторов эффект антидепрессантов отсутствует [45]. Нарушение гиппокампального нейрогенеза с помощью воздействия низких доз радиации также блокирует эффект антидепрессантов на экспериментальных моделях [46].

Подтверждением взаимосвязи дефицита BDNF с депрессией является хорошо установленный факт, что хронический стресс, являющийся одним из основных

факторов риска развития депрессии, сопровождается снижением содержания гиппокампального BDNF и нарушением нейропластичности гиппокампа.

Функцию физиологической адаптации организма к стрессирующим факторам выполняет гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система. Активация этой системы регулируется с помощью петли отрицательной обратной связи, в которой важную роль играет гиппокамп. Вовлечённость гиппокампа в данную обратную связь обусловлена содержанием в нём большого количества рецепторов глюкокортикоидов и минералокортикоидов — гормонов, выделяемых надпочечниками при активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Активация этих рецепторов приводит к угнетению базальной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и к завершению её ответа на стресс [47]. Накоплен большой объём экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что хронический стресс приводит к снижению содержания BDNF в гиппокампе, уменьшению объёма гиппокампа, угнетению гиппокампального нейрогенеза и ослаблению отрицательной обратной связи между гиппокампом и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системой [43].

Механизмы деструктивных изменений в гиппокампе в ответ на стресс недостаточно изучены, но известно, что в них принимает участие серотониновая система мозга. Установлено, что гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система регулирует чувствительность серотониновой системы, влияя на синтез и активность транспортёра серотонина (так же как и активность специфических транспортёров других моноаминов) [48]. Серотонин стимулирует пролиферацию клеток-предшественников в зубчатой извилине гиппокампа [43] и регулирует чувствительность этих клеток к глюкокортикоидам [49]. Таким образом, дефицит серотонина может вести к угнетению нейрогенеза в гиппокампе. С другой стороны, известно, что BDNF регулирует функционирование серотонинергических нейронов. BDNF и его рецепторы TrkB экспрессируются серотонинергическими нейронами головного мозга [50]. BDNF из гиппокампа (места синтеза) поступает путём ретроградного транспорта в ядра шва продолговатого мозга, где расположены тела серотонинергических нейронов [51]. Установлено, что у трансгенных мышей с дефицитом BDNF значительно снижена по сравнению с нормой серотонинергическая иннервация коры и гиппокампа [52].

Таким образом, хорошо установлена важная роль дефицита BDNF в патофизиологии депрессии, который ассоциирован с нарушением нейропластичности гиппокампа, дисфункцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, а также нейротрансмиттерной серотонинергической системы.

Вовлечённость BDNF в патогенез других психических заболеваний. Помимо депрессии, BDNF играет существенную роль в патофизиологии целого ряда

психических заболеваний. Установлена связь между полиморфизмом Val66Met гена BDNF и повышенным риском развития и/или тяжестью протекания биполярного аффективного расстройства [32], тревожных расстройств [53], шизофрении [54], синдрома Ретта [32], расстройств пищевого поведения [55, 56] и др.

Посмертные исследования показали снижение содержания BDNF в гиппокампе лиц, страдавших биполярным аффективным расстройством [57] и в некоторых регионах мозга у людей, страдавших шизофренией [58]. Содержание BDNF в плазме крови значительно снижено у лиц с обсессивно-компульсивным расстройством и расстройствами пищевого поведения по сравнению со здоровыми людьми [59, 60].

Исследования на трансгенных мышах показали, что дефицит BDNF ассоциирован с нарушениями пищевого поведения [61], повышенной тревожностью [61, 62], с такими позитивными симптомами шизофрении, как психоз, и гиперактивность [32], а также с когнитивными нарушениями [63].

В экспериментах была показана эффективность BDNF на моделях синдрома Ретта и нарушений пищевого поведения. Так, кратковременная инкубация срезов ствола головного мозга трансгенных мышей с мутантным геном MECP2 (модель синдрома Ретта) с BDNF снижает синаптическую гипервозбудимость в нейронах ядра солитарного тракта (входящих в состав дыхательного центра) [64]. Внутримозговое введение BDNF корректирует нарушения пищевого поведения у трансгенных мышей с дефицитом BDNF [60].

Таким образом, BDNF играет ключевую роль в регуляции нейрогенеза, синаптической пластичности, синаптогенеза и нейропластичности в целом. Эти функции BDNF обуславливают его вовлечённость в целый спектр психических и психоневрологических заболеваний.

В связи с вышесказанным разработка основанных на BDNF терапевтических стратегий крайне актуальна и может иметь большие перспективы для развития медицины и фармакологии.

Рецепторы BDNF и их сигнальные пути

BDNF проявляет свои эффекты, связываясь с двумя совершенно разными классами рецепторов — высокоафинными тирозинкиназными TrkB-рецепторами и низкоафинными p75-рецепторами.

TrkB рецепторы экспрессируются на телах нейронов, на аксонах и дендритах во многих структурах мозга, включая кору, гиппокамп, стриатум, ядра перегородки, чёрную субстанцию, клетки Пуркиньи мозжечка, ствол мозга, спинальные мотонейроны и чувствительные ядра ствола; кроме того TrkB обнаружен на субпопуляции клеток эпендимы, выстилающей желудочки мозга.

Взаимодействие BDNF с TrkB рецептором приводит к димеризации рецептора и изменению его конформации, вследствие чего происходит ауто-

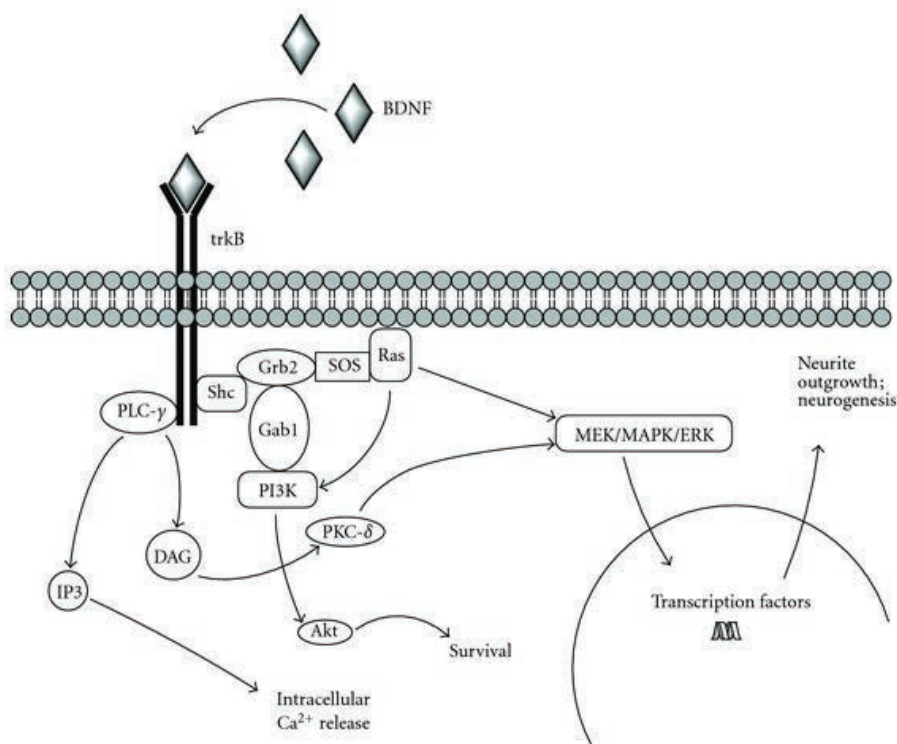


Рис. 1. Сингальные пути TrkB рецептора [28, 29]:

Akt — протеинкиназа B; BDNF — мозговой нейротрофический фактор; DAG — диацилглицерин; ERK — классические митоген-активирующие протеинкиназы; Gab1 — адаптерный белок, связанный с Grb2; Grb2 — адаптерный белок (Growth Receptor Binding protein — белок, связывающий ростовые рецепторы); Intracellular Ca²⁺ release — высвобождение внутриклеточного кальция; IP3 — инозитол-1,4,5-трифосфат; MAPK — митоген-активирующая протеинкиназа; MEK — киназа MAPK и ERK; Neurite outgrowth; neurogenesis — рост аксонов, нейрогенез; PI3K — фосфатидилинозитол-3-киназа; PKC-δ — протеинкиназа C-δ; PLC-γ — фосфолипаза C-γ; Ras — семейство генов и белков, кодирующих G-белки; SOS — нуклеотидный релизинг фактор (гуанин-нуклеотид заменяющий фактор); Shc — адаптерный белок ((Src homology 2 domain containing) transforming protein — двухдоменный трансформирующий белок, гомологичный Src); Survival — выживаемость; Transcription factors — факторы транскрипции; TrkB — тирозинкиназный рецептор II типа

фосфорилирование тирозиновых остатков его цитоплазматического домена. В результате происходит формирование сайтов связывания с сигнальными и адапторными белками, которые активируют PI3/АКТ-киназный, MAP/ERK-киназный сигнальные каскады и фосфолипазу C (PLC-γ) [67] (рис. 1).

PI3/АКТ-киназный путь в основном отвечает за нейропротекцию, MAP/ERK-киназный каскад вовлечён в нейропротекцию, дифференцировку, а также синаптическую пластичность и нейрогенез, фосфолипаза C (PLC-γ) опосредует синаптическую пластичность, дифференцировку клеток и рост аксонов [66, 67].

P75-рецепторы взаимодействуют со всеми белками семейства нейротрофинов. Они могут служить корецепторами для TrkB рецепторов, усиливая опосредуемые ими функции или стимулировать апоптоз [65]. Trk и p75 рецепторы часто находятся в непосредственной близости на клеточной мембране [68]. Основные внутриклеточные каскады, активируемые p75 рецепторами [69]:

- каскад, опосредованный NF-κB (Nuclear Factor kappa B), который стимулирует рост дендритов и увеличивает выживаемость аксонов;
- каскад, опосредованный JNK (c-Jun-N-terminal kinase), который ведёт к гибели клеток путём апоптоза;
- каскад, опосредованный церамидом, который может способствовать как поддержанию жизнеспособности клеток, так и их апоптозу.

Структура BDN

Нейротрофины представляют собой гомодимеры нековалентно связанных мономеров из примерно 120 аминокислотных остатков каждый. Рентгеноструктурный анализ NGF [70], NT3 [71], NT4/5 и BDNF/NT/4,5 [72] выявили присущий им общий способ сворачивания. Каждый мономер содержит 7 бета-тяжей, которые входят в состав трёх продольных закрученных бета-листа. Эти бета-листы заканчиваются тремя экспонированными в растворитель шпилькообразными петлями 1, 2 и 4 и удлинённой петлей 3.

Петли преимущественно соответствуют вариabельным районам аминокислотной последовательности. Каждый мономер стабилизирован шестью полностью консервативными цистеиновыми остатками, которые образуют 3 дисульфидных мостика, организованные в так называемый цистеиновый узел, характерный для всех ростовых факторов. Мономеры нейротрофинов связаны нековалентно и параллельно, вследствие чего шесть петель располагаются на одной стороне димерной молекулы (рис. 2).

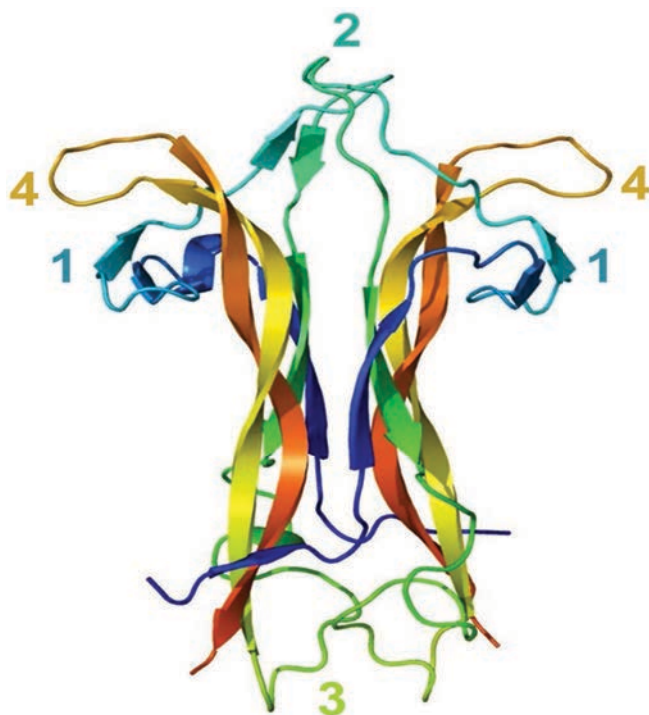


Рис. 2. Структура гетеродимера BDNF/NT-4 (ID 1b8m). Петли – 1, 2, 3, 4 [72]

В 90-х годах серия исследований по сайт-направленному мутагенезу позволила *Ibáñez C.F.* и соотр. [73] предположить, что петли 1, 2 и 4 являются носителями аминокислотных остатков, непосредственно участвующих в связывании с рецепторами.

Низкомолекулярные миметики BDNF

Первые низкомолекулярные миметики BDNF были получены исследовательской группой из Университета Мельбурна (Австралия) под руководством *Hughes R.* [74]. К началу работы трёхмерная структура BDNF была неизвестна. Информацию о ней группа Хьюза получила с помощью гомологичного моделирования на основе трёхмерной структуры NGF, описанной *McDonald N.Q.* и др. в 1991 г. [70]. Полученная таким образом трёхмерная структура BDNF была позже подтверждена рентгеноструктурными исследованиями *Robinson R.C.* и соавт. [75]. К этому времени было известно, что химерный NGF с имплан-

тированной 2-й петлей BDNF приобретал способность связываться с TrkB-рецепторами [76]. В связи с этим внимание исследователей было обращено на петлю 2, определённую ими как Glu⁴⁰-Lys⁴¹-Val⁴²-Pro⁴³-Val⁴⁴-Ser⁴⁵-Lys⁴⁶-Gly⁴⁷-Gln⁴⁸-Leu⁴⁹-Lys⁵⁰-Gln⁵¹. Путём моделирования с помощью программы Hyperchem были сконструированы циклические пептиды, конформационно ограниченные дисульфидными мостиками остатков цистеина. Из этих циклопептидов с помощью алгоритма Polack-Ribere и силового поля MM+ были отобраны четыре соединения, теоретически конформационно близких петле 2 и содержащих от 12 до 6 аминокислотных остатков BDNF (L2-12, L2-10, L2-8, L2-6, рис. 3).

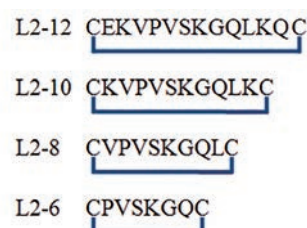


Рис. 3. Миметики 2-й петли BDNF [74]

Сконструированные пептиды были получены твердофазным синтезом с последующим окислением цистеиновых остатков диметилсульфоксидом при pH 8,0.

Изучение влияния синтезированных пептидов на выживаемость сенсорных нейронов куриных зародышей выявило концентрационно-зависимое ингибирование выживаемости опосредованной BDNF. Максимальный эффект у всех пептидов наблюдался в микромолярной концентрации. Выраженность эффекта у пептидов L2-12 и L2-10 составляла 40%, у пептида L2-8 — 50%, у пептида L2-6 — 27%. Соответствующие линейные пептиды были не активны. Все циклопептиды не ингибировали действие NGF. Так впервые были получены специфичные конкурентные антагонисты TrkB.

В следующей работе [77] авторы на основе наиболее активного циклопептида L2-8 с помощью программы Sybyl сконструировали димерные ди- и трициклические пептидные миметики второй петли с агонистической активностью. В их числе бициклические димерные пептиды, димеризованные дисульфидной связью, амидной связью и трициклические димерные пептиды, димеризованные и амидной, и дисульфидной связями (рис. 4). Димеризацию дисульфидной связью осуществляли, вводя остатки цистеина вовнутрь последовательности L2-8. Димеризацию с помощью амидной связи осуществляли, вводя в качестве С-концевых остатки лизина и глутаминовой кислоты, которые далее объединяли амидной связью боковых функциональных групп.

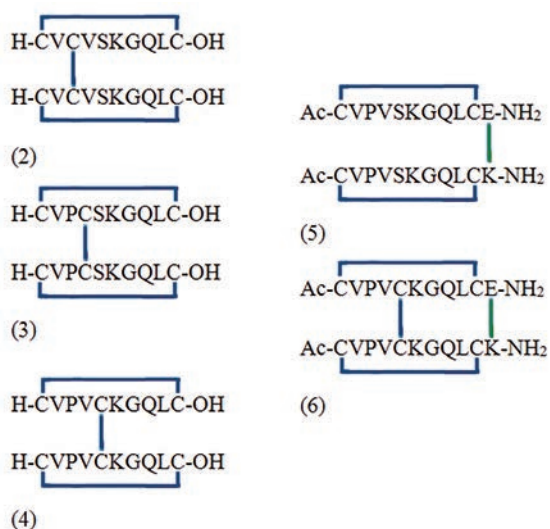


Рис. 4. Би- и трициклические миметики петель BDNF [77]

Место введения димеризующей связи определялось, исходя из расстояний между соответствующими аминокислотными остатками во второй петле.

Сконструированные соединения были синтезированы твёрдофазным методом в сочетании с методом образования амидной связи (γ -Glu- ϵ -Lys) частично защищённых продуктов и образования дисульфидной связи путём окисления остатков цистеина.

Эффекты бициклических димеров были изучены на первичных культурах сенсорных нейронов зародышей цыплят. Соединения 2, 4, 5 и 6 проявляли концентрационно-зависимое увеличение выживаемости нейронов. Среди бициклов наиболее активным было соединение 5 с $EC_{50}=10^{-10}M$ с выраженностью эффекта 30% от BDNF. Среди всех соединений самым активным было трициклическое соединение 6 (35% от BDNF; $EC_{50}=10^{-11}M$). Все соединения концентрационно-зависимо ингибировали эффекты BDNF на выживаемость, являясь, таким образом, его частичными агонистами-антагонистами. Соединение 3 обладало только антагонистическими свойствами.

Для воспроизведения пространственной структуры BDNF, содержащей 3 пары, участвующих в связывании рецептора петель, группа Хьюза получила, наряду с мономерными аналогами, димерные миметики петель BDNF [78]. Были сконструированы как интра-цепочечные (относящиеся к одной и той же полипептидной цепи), так и интерцепочечные (относящиеся к разным полипептидным цепям) димеры. В первых (гетеродимерных) были объединены петли 1 и 2, 2 и 4. Во втором случае речь шла о гомодимерах, объединявших 2 и 2' петли, 4 и 4' петли разных полипептидных цепей BDNF. Положение цистеиновых мостиков определялось как визуально, так и с использованием программы Sybyl 6.4. Таким образом, чтобы внесённые в структуру возмущения были минимальны.

Пептид	Структура	Петля
Мономеры		
L1	Ac-CVDMSSGGTCTC(Acm)-OH	1
L2a	H-C(Acm)ECVPVSKGQLC-OH	2
L2b	H-C(Acm)LECVPVSKGQLC-OH	2
L4a	H-C(Acm)CTMDSKKRIGC-OH	4
L4b	H-C(Acm)RACTMDSKKRIGC-OH	4
Димеры		
L1-2a	Ac-CVDMSSGGTCTC-OH H-CECVPVSKGQLC-OH	1+2
L2b-L4a	H-CLECVPVSKGQLC-OH H-CCTMDSKKRIGC-OH	2+4
L4b-L4b	H-CRACTMDSKKRIGC-OH H-CRACTMDSKKRIGC-OH	4+4

Рис. 5. Мономерные и димерные пептидные миметики 1, 2 и 4-й петель BDNF

Мономерные пептиды концентрационно-зависимо ингибировали эффекты BDNF на выживаемость сенсорных нейронов эмбрионов цыплят. L1 проявлял наименьшую активность ($10^{-5}M$, 30% ингибирования). Другие мономерные пептиды были активны уже в концентрации $10^{-7}M$. L2a обладал наибольшей ингибирующей активностью. Он был активен в интервале концентраций 10^{-9} – $10^{-5}M$ с максимальным эффектом 45% в концентрации $10^{-5}M$. Миметики 4-й петли L4a и L4b были активны в интервале концентраций 10^{-7} – $10^{-5}M$ с максимальными эффектами 49 и 41%, соответственно, оба в концентрации $10^{-5}M$.

Почти все димерные миметики также обладали ингибирующей активностью. И только гомодимерный бициклический пептид L4b-L4b обладал агонистической активностью, будучи способным в концентрации $10^{-5}M$ увеличивать выживаемость сенсорных нейронов.

В целом, австралийскими учёными было показано, что мономерные моноциклические пептиды, как и гетеродимерные бициклические пептиды, основанные на петлях 1, 2 и 4, являются ингибиторами BDNF, в то время как гомодимерные бициклические пептиды являются агонистами BDNF.

Таким образом, были получены низкомолекулярные миметики BDNF с агонистической активностью как на основе 2-й [77], так и на основе 4-й петель нейротрофина [78].

Эти соединения, будучи низкомолекулярными аналогами BDNF, всё ещё обладали большой молекулярной массой и были слишком сложны по структуре для дальнейшего развития в качестве лекарственных средств. В связи с этим группа Хьюза создала циклический протеолитически стабильный миметик BDNF, представляющий собой циклический пентапептид цикло(-D-Pro-Ala-Lys-Lys-Arg-), однако являющийся лигандом не TrkB, а p75 нейротрофинового рецептора [79]. Основой для конструирования этого циклопептида явились данные сайт-направленного мутагенеза о ключевой роли трипептидной последовательности -Lys-Lys-Arg- 4-й петли BDNF во взаимодействии с p75 рецептором [73].

Конструирование циклопептида проводилось с помощью программ Sybyl 6.4 и Hyperchem 4.0. Трипептидная последовательность Lys⁹⁴-Lys⁹⁵-Arg⁹⁶ 4-й петли BDNF была взята из трёхмерной структуры BDNF, полученной путём гомологичного моделирования [77]. Далее был рассмотрен широкий набор конформационных ограничителей, из которого были выбраны аминокислотные остатки, которые помещались между N- и C-концами трипептидной последовательности. В качестве таковых рассматривались пары Gly, Ala и Pro (включая D-формы), а также β-аминокислоты и другие ω-алкиламино кислоты различной длины. Каждая структура оптимизировалась до локального минимума конформационной энергии в силовом поле AMBER, имплементированного в Hyperchem. Перспективные циклопептиды подвергались дальнейшим конформационным исследованиям с использованием команды Conformation search в Hyperchem, в которых торсионные углы основной цепи менялись случайным образом и полученные структуры вновь минимизировались по энергии. Уникальные низкоэнергетические конформации, в которых среднее квадратичное отклонение α- и β-углеродных атомов от соответствующих атомов природного трипептида было меньше 0,4 Å, использовались для дальнейшей работы.

Визуальное моделирование дало 57 циклопептидов. Минимизация энергии уменьшила их число до 9, конформационный анализ и сравнение с природным трипептидом оставили 2 пептида, 6-аминогексаноил-содержащий тетрапептид (цикло-(Ahx-Lys-Lys-Arg)) и D-Pro — содержащий пентапептид (цикло-(D-Pro-Ala-Lys-Lys-Arg)). Оба были синтезированы твёрдофазным пептидным синтезом с последующей циклизацией в растворе. Наиболее активным по выживаемости сенсорных нейронов в экспериментах на культуре 8-дневных куриных эмбрионов был циклопентапептид, который давал 38% от активности BDNF при 10⁻⁶М и 68% при 10⁻⁴М. Он увеличивал эффект BDNF и не проявлял активности на NGF-зависимой культуре нейронов.

Этот пептид не влиял на TrkB и его низлежащие пути сигналинга (MAPK), что было показано методом Вестерн-блот-анализа. Его взаимодействие с p75 рецептором подтверждается тем, что он способствует

периферической миелинизации нервных волокон *in vitro* и *in vivo* [80]. Известно, что в этом процессе участвует p75 рецептор, тогда как активация TrkB ингибирует миелинизацию. Эксперименты *in vitro* проводились на культуре NGF-зависимых нейронов дорсального корневого ганглия (DRG) новорождённых крыс Спрег-Доули (Sprague Dawley) (P2 S/D). Миелинизацию определяли Вестерн-блот-анализом с помощью моноклональных антител к гликопротеину, ассоциированному с миелином (MAG) и к основному белку миелина (MBP) и гистохимически. Пептид был активен в концентрациях 10⁻⁸–10⁻⁷М. В то же время ни циклопентапептид, ни BDNF не были активны на DRG нейронах из p75NTR-/- мышей. Это показывает, что экспрессия p75 абсолютно необходима для промиелинизирующего действия как BDNF, так и цикло-DPAKKR. Эксперименты *in vivo* проводились на крысах Спрег-Доули путём подкожной инъекции 3,2 мкг цикло-DPAKKR с последующим извлечением седалищного нерва и определением экспрессии основного регулятора миелинизации NRG1-type III, а также MAG и MBP методом Вестерн-блот-анализа. Было показано, что циклопентапептид увеличивал экспрессию NRG1-type III и миелинизацию, в то время как BDNF был не активен. Цикло-DPAKKR или подобные ему, которые усиливают миелинизацию селективно через p75 рецептор, могут быть использованы для лечения периферических демиелинизирующих заболеваний.

В отличие от пентапептида, трициклический димерный пептид 6 (рис. 4), селективно активирующий TrkB рецептор, селективно усиливает миелинизацию центральных нейронов (0,1 – 100 нМ *in vitro*) [81], что может быть полезно при лечении таких заболеваний, как рассеянный склероз.

Для улучшения фармакокинетических свойств цикло-(D-Pro-Ala-Lys-Lys-Arg) был гидрофобизован путём замены Ala на Lys и введения н-алкилацильной группы в ω-аминогруппу этого лизина [82]. Эффективная концентрация пентадеканоильного производного цикло-DPKKKR *in vitro* уменьшилась на 2 порядка (pEC_{20BDNF} = 9,1), увеличилась его стабильность в плазме крыс и способность проникать через модельные биологические мембраны.

Группа Longo F.M. [83] разработала непептидные аналоги 2-й петли BDNF, исходя из данных [76, 84] о важности участка SKGOL для проявления активности нейротрофина, полученных с помощью химерных белков NGF/BDNF. На основе пространственной структуры этого участка Longo F.M. постулировал фармакофорную гипотезу, которая была использована для виртуального скрининга. Постулированный фармакофор имел 35 конформеров, для каждого из них был осуществлён скрининг *in silico* более миллиона доступных соединений из библиотек Asinex, AMRI, Interbioscreen, Sigma-Aldrich, Timtec, Chemstar. Виртуальный скрининг дал 1 855 кандидатов, которые совмещались с конформером фармакофора со сво-

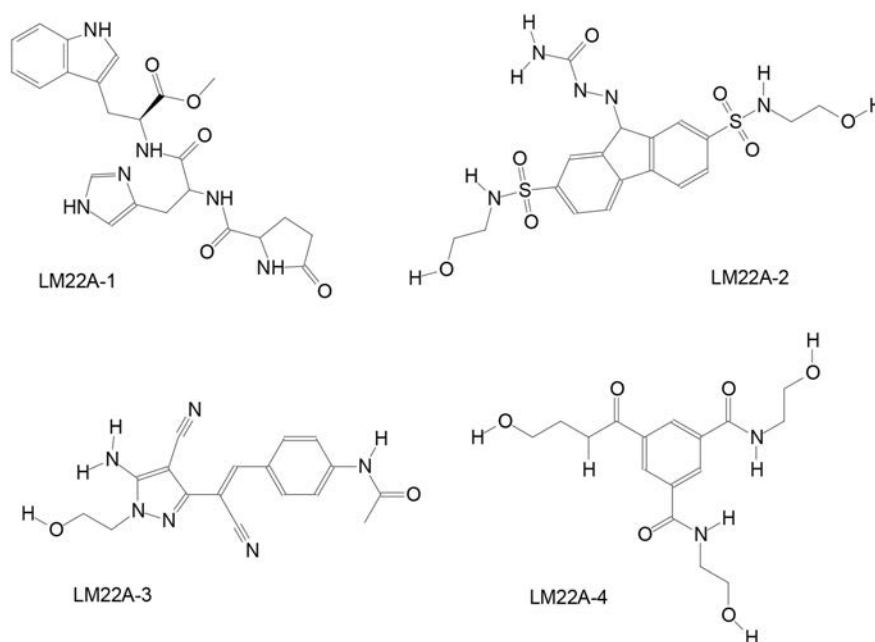


Рис. 6. Миметики BDNF, найденные скринингом [83]

бодной энергией менее 10 ккал/моль. Это количество было уменьшено до 14 на основе таких критериев, как отсутствие объёма, который мог бы мешать взаимодействию с рецептором, наличия гибкости молекулы, молекулярной массы между 500 и 650 Да, и критериев Липинского (Lipinski). Соединения, находящиеся на границе этих критериев и с трудом налагающиеся на фармакофор, были исключены. 7 из этих соединений были коммерчески доступны и для них был проведён анализ *in vitro* на гиппокампальных нейронах мыши E16. Нейротрофической активностью обладали четыре из них, получившие шифры LM22A-1, LM22A-2, LM22A-3 и LM22A-4 (рис. 6). Они показывали 80–89% от активности BDNF с EC₅₀ от 200 до 500 pM.

Все соединения проявили себя как селективные частичные агонисты TrkB рецепторов, что было показано ингибиторным анализом с K252a и Вестерн-блот анализом TrkB^{Y490p} на клетках, экспрессирующих только TrkB или TrkA или TrkC. Отобранное благодаря простоте структуры и возможности модернизации, соединение 4 (три(оксиэтиламин) 1,3,5- бензолтрикарбоновой кислоты) было активно на клеточных моделях болезней Альцгеймера, Хаттингтона и Паркинсона в концентрации 0,5 мкМ в экспериментах *in vitro*. Соединение 4 в дозе 3,4 мкг при двухнедельном интраназальном введении способствовало восстановлению моторных функций после экспериментальной травмы мозга у крыс.

Было показано, что соединение LM22A-4 эффективно на моделях синдрома Ретта в экспериментах *in vitro* (0,5 мкМ) и *in vivo* (150 мг/кг внутривенно, мыши) [83, 85].

Кроме того, японские исследователи из Хиросимского университета (Hiroshima) показали [86],

что LM22A-4, аналогично BDNF, регулирует дифференцировку цементобластов, которая осуществляется через TrkB-ERK/АКТ сигнальный каскад. Это может дать новый лекарственный способ регенерации пародонтальной ткани и лечения пародонтоза.

Группа исследователей из Нью-Йоркского государственного института фундаментальных исследований нарушений развития получила 5 терапевтически перспективных тетрапептидов B1–B5, соответствующих последовательностям 6–9, 71–74, 94–97, 72–75, 115–118 BDNF человека [87]. Пептидные последовательности были выявлены как эпитопы моноклональных антител к активным сайтам BDNF. Для того, чтобы блокировать заряды концевых аминокислот, пептиды были ацилированы по N-концу и амидированы по C-концу: B1 (Ac-RRGF-CONH₂), B2 (Ac-IDKR-CONH₂), B3 (Ac-SKKR-CONH₂), B4 (Ac-DKRH-CONH₂) и B5 (IKRG-CONH₂). Все пептиды вызывали умеренную активацию (фосфорилирование по Y706) TrkB-рецептора, которая блокировалась K252a, ингибитором семейства Trk. Наиболее активными были пептиды B3 и B5, которые работали как частичные агонисты/антагонисты BDNF. Они увеличивали выживаемость мышечных первичных нейронов E18 гиппокампа (0,1–1 мкМ) и вызывали экспрессию нейрональных маркеров MAP2, β-III тубулина, NTM и NeuM аналогично BDNF в концентрации 0,8 нМ. В отличие от B5, B3 имеет аддитивный эффект с BDNF по защите нейронов от окислительного стресса. Авторы предполагают, что B3 может иметь дополнительный сигналинг, отличный от такового BDNF, активируя и другие рецепторы, нежели TrkB. Авторы делают вывод, что эти пептиды более перспективны как лекарственные препараты,

чем димерные циклические пептиды Хьюза, поскольку имеют меньшую молекулярную массу и могут легче проникать через биологические барьеры и более перспективны, чем непептидные миметики Лонго, так как метаболизируются до природных аминокислот.

Таким образом, для конструирования миметиков BDNF использовались данные по сайт-направленному мутагенезу и химеризации NGF/BDNF, поиск среди эпитопов моноклональных антител к активным участкам BDNF, рандомизированный скрининг среди химических библиотек на основе фармакофора, предложенного в результате анализа данных сайт-направленного мутагенеза.

Отметим, что ни для одного из рассмотренных выше миметика не приводятся данные по антидепрессивной активности.

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был использован принципиально иной подход, состоящий в использовании для моделирования центральных фрагментов бета-изгибов петлеобразных участков как наиболее экспонированных наружу и поэтому максимально доступных для взаимодействия с рецептором. Эта стратегия привела к наименьшим из всех возможных пептидных аналогов BDNF — дипептидам.

На основе бета-изгиба 4-й петли BDNF был сконструирован миметик ГСБ-106 (гексаметилендиамид бис(моносукцинил-серил-лизина)) [88].

Вестерн-блот анализом с использованием мышечных гиппокампальных клеток HT22 было показано, что ГСБ-106 селективно активизирует TrkB-рецептор и его низлежащие сигнальные АКТ и MAP киназные пути [89].

ГСБ-106 обладает в экспериментах *in vitro* на разных клеточных культурах в условиях окислительного стресса, 6-оксидофаминовой и глутаматной токсичности нейропротекторным эффектом в концентрациях 10^{-5} – 10^{-8} М [90]. Нейропротекторная активность была подтверждена в экспериментах *in vivo* [91]. На мышцах и крысах ГСБ-106 проявлял антидепрессивную активность в дозах 0,1–10 мг/кг внутривентриально и перорально в моделях неизбежного плавания как по Порсолту, так и по Номуре, подвешивания за хвост по Стере и в модели выученной беспомощности [92].

Литература

1. Barde Y.A., Davies A.M., Johnson J.E., Lindsay R.M., Thoenen H. Brain-derived neurotrophic factor. *Prog Brain Res.* 1987; 71: 185–189.
2. Egan M.F., Kojima M., Callicott J.H., Goldberg T.E., Kolachana B.S., Bertolino A., Zaitsev E., Gold B., Goldman D., Dean M., Lu B., Weinberger D.R. The BDNF Val66Met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell.* 2003; 112: 2: 257–269.
3. Bath K.G., Lee F.S. Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. *Cogn. Affect Behav. Neurosci.* 2006; 6: 1: 79–85.
4. Maisonpierre P.C., Belluscio L., Friedman B., Alderson R.F., Wiegand S.J., Furth M.E., Lindsay R.M., Yancopoulos G.D. NT-3, BDNF, and NGF in the developing rat nervous system: parallel as well as reciprocal patterns of expression. *Neuron.* 1990; 5: 4: 501–509.
5. Altman J., Bayer S.A. The development of the rat spinal cord. *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology.* 1984; 85: 1–164.

ГСБ-106 оказывал стимулирующее влияние на нейрогенез в условиях субхронического стресса у мышей, вызванного контактом с хищником [93].

Предварительные токсикологические и фармакокинетические исследования показали, что ГСБ-106 нетоксичен (LD_{50} для беспородных мышей-самцов > 4,5 г/кг) и проникает через гемато-энцефалический барьер).

Полученные данные об антидепрессивной активности низкомолекулярного миметика BDNF ГСБ-106, с одной стороны, подтверждают гипотезу о вовлечении BDNF в патогенез различных форм депрессивных состояний, а с другой — открывают перспективу разработки на основе вновь синтезированного соединения нового оригинального по структуре и механизму действия антидепрессанта. Следует отметить, что ГСБ-106 является первым в мире миметиком BDNF, для которого была выявлена антидепрессивная активность

Заключение

Депрессия является наиболее распространённым психическим заболеванием во всем мире. Применяющиеся в клинике антидепрессанты не обладают достаточной эффективностью, кроме того при их длительном применении возникает большой риск развития побочных эффектов.

Высоким потенциалом для лечения депрессии обладает BDNF, что обусловлено его ключевой ролью в регуляции нейрогенеза и нейропластичности. Однако применение нативного нейротрофина в клинике ограничено его неудовлетворительными фармакокинетическими свойствами. Одним из подходов для преодоления ограничений применения BDNF является создание его низкомолекулярных миметиков, реализующих при системном введении фармакотерапевтические эффекты целого белка.

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был создан первый в мире миметик BDNF, ГСБ-106, для которого была показана антидепрессивная активность.

6. Bayer S., Altman J. Development of the telencephalon: neural stem cells, neurogenesis and neuronal migration in The Rat Nervous System. G. Paxinos, Ed., Elsevier, Waltham, Mass, USA. 2004: 27–73.
7. Jones K.R., Farinas I., Backus C., Reichardt L.F. Targeted disruption of the BDNF gene perturbs brain and sensory neuron development but not motor neuron development. *Cell.* 1994; 76: 6: 989–999.
8. Ernfors P., Lee K.F., Jaenisch R. Mice lacking brain-derived neurotrophic factor develop with sensory deficits. *Nature.* 1994; 368: 6467: 147–150.
9. Schwartz P.M., Borghesani P.R., Levy R.L., Pomeroy S.L., Segal R.A. Abnormal cerebellar development and foliation in BDNF (-/-) mice reveals a role for neurotrophins in CNS patterning. *Neuron.* 1997; 19: 2: 269–281.
10. Pencea V., Bingaman K.D., Wiegand S.J., Luskin M.B. Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *J. Neurosci.* 2001; 21: 17: 6706–6717.
11. Scharfman H., Goodman J., Macleod A., Phani S., Antonelli C., Croll S. Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after

intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Experimental Neurology*. 2005; 192: 2: 348–356.

12. Danzer S.C., Crooks K.R.C., Lo D.C., McNamara J.O. Increased expression of brain-derived neurotrophic factor induces formation of basal dendrites and axonal branching in dentate granule cells in hippocampal explant cultures. *J. Neurosci*. 2002; 22: 9754–9763.

13. Gottmann K., Mittmann T., Lessmann V. BDNF signaling in the formation, maturation and plasticity of glutamatergic and GABAergic synapses. *Experimental Brain Research*. 2009; 199: 3–4: 203–234.

14. Gärtner A., Polnau D.G., Staiger V., Sciarretta C., Minichiello L., Thoenen H., Bonhoeffer T., Korte M. Hippocampal long-term potentiation is supported by presynaptic and postsynaptic tyrosine receptor kinase B-mediated phospholipase C signaling. *J. Neurosci*. 2006; 26: 13: 3496–3504.

15. Pozzo-Miller L.D., Gottschalk W., Zhang L., McDermott K., Du J., Gopalakrishnan R., Oho C., Sheng Z.H., Lu B. Pozzo-Miller L.D., Gottschalk W., Zhang L., McDermott K., Du J., Gopalakrishnan R., Oho C., Sheng Z.H., Lu B. Impairments in high-frequency transmission, synaptic vesicle docking, and synaptic protein distribution in the hippocampus of BDNF knockout mice. *J. Neurosci*. 1999; 19: 12: 4972–4983.

16. Korte M., Carroll P., Wolf E., Brem G., Thoenen H., Bonhoeffer T. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1995; 92: 19: 8856–8860.

17. Korte M., Griesbeck O., Gravel C., Carroll P., Staiger V., Thoenen H., Bonhoeffer T. Virus-mediated gene transfer into hippocampal CA1 region restores long-term potentiation in brain-derived neurotrophic factor mutant mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1996; 93: 22: 12547–12552.

18. Xu B., Gottschalk W., Chow A., Wilson R.I., Schnell E., Zang K., Wang D., Nicoll R.A., Lu B., Reichardt L.F. The role of brain-derived neurotrophic factor receptors in the mature hippocampus: modulation of long-term potentiation through a presynaptic mechanism involving trkB. *J. Neurosci*. 2000; 20: 18: 6888–6897.

19. Kramar E.A., Chen L.Y., Lauterborn J.C., Simmons D.A., Gall C.M., Lynch G. BDNF upregulation rescues synaptic plasticity in middle-aged ovariectomized rats. *Neurobiology of Aging*. 2012; 33: 4: 708–719.

20. Caldeira M.V., Melo C.V., Pereira D.B., Carvalho R.F., Carvalho A.L., Duarte C.B. BDNF regulates the expression and traffic of NMDA receptors in cultured hippocampal neurons. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2007; 35: 2: 208–219.

21. Zhu S.W., Yee B.K., Nyffeler M., Winblad B., Feldon J., Mohammed A.H. Influence of differential housing on emotional behavior and neurotrophin levels in mice. *Behav. Brain Res*. 2006; 169: 10–20.

22. Kessler J.P., Chuang K.R., Berchtold N.C. Spatial learning is delayed and brain-derived neurotrophic factor mRNA expression inhibited by administration of MK-801 in rats. *Neurosci. Lett*. 2003; 353: 2: 95–98.

23. Cirulli A., Berry A., Chiarotti F., Alleva E. Intrahippocampal administration of BDNF in adult rats affects short-term behavioral plasticity in the Morris water maze and performance in the elevated plus-maze. *Hippocampus*. 2004; 14: 7: 802–807.

24. Koponen E., Vöikar V., Riekkö R., Saarelainen T., Rauramaa T., Rauvala H., Taira T., Castrén E. Transgenic mice overexpressing the full-length neurotrophin receptor TrkB exhibit increased activation of the TrkB-PLCgamma pathway, reduced anxiety, and facilitated learning. *Mol. Cell. Neurosci*. 2004; 26: 1: 166–181.

25. Alonso M., Vianna M.R., Depino A.M., Mello e Souza T., Pereira P., Szapiro G., Viola H., Pitossi F., Izquierdo I., Medina J.H. BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. *Hippocampus*. 2002; 12: 4: 551–560.

26. Shirayama Y., Chen A.C., Nakagawa S., Russell D.S., Duman R.S. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J. Neurosci*. 2002; 22: 3251–3261.

27. Hoshaw B.A., Malberg J.E., Lucki I. Central administration of IGF-I and BDNF leads to long-lasting antidepressant-like effects. *Brain Res*. 2005; 1037: 204–208.

28. Hu Y., Russek S.J. BDNF and the diseased nervous system: a delicate balance between adaptive and pathological processes of gene regulation. *J. Neurochem*. 2008; 105: 1–17.

29. Tikhova M., Kulikov A.V. Antidepressant-like effects of central BDNF administration in mice of antidepressant sensitive catalepsy (ASC) strain. *Chin J. Physiol*. 2012; 55: 4: 284–293.

30. Naumenko V.S., Kondaurova E.M., Bazovkina D.V., Tsybko A.S., Tikhonova M.A., Popova N.K. Effect of brain-derived neurotrophic factor on behavior and key members of the brain serotonin system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse strains. *Neurosci*. 2012; 214: 59–67.

31. Polyakova M., Stuke K., Schuemberg K., Mueller K., Schoenknecht P., Schroeter M.L. BDNF as a biomarker for successful treatment of mood disorders: a systematic & quantitative meta-analysis. *J. Affect. Disord*. 2015; 174: 432–440.

32. Autry A.E., Monteggia L.M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol. Rev*. 2012; 64: 2: 238–258.

33. Karege F., Vaudan G., Schwald M., Perroud N., La Harpe R. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Mol. Brain Res*. 2005; 136: 1–2: 29–7.

34. Jiang C., Salton R. The Role of Neurotrophins in Major Depressive Disorder. *Transl. Neurosci*. 2013; 4: 1: 46–58.

35. Wainwright S.R., Galea L.A. The neural plasticity theory of depression: assessing the roles of adult neurogenesis and PSA NCAM within the hippocampus. *Neural. Plast*. 2013; 805497.

36. Dwivedi Y. Involvement of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Late-Life Depression. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*. 2013; 21: 5: 433–449.

37. McKinnon M.C., Yucel K., Nazarov A., MacQueen G.M. A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *J. Psychiatry and Neurosci*. 2009; 34: 1: 41–54.

38. Cobb J.A., Simpson J., Mahajan G.J., Overholser J.C., Jurjus G.J., Dieter L., Herbst N., May W., Rajkowska G., Stockmeier C.A. Hippocampal volume and total cell numbers in major depressive disorder. *J. Psychiatric Res*. 2013; 47: 3: 299–306.

39. Boldrini M., Santiago A.N., Hen R., Dwork A.J., Rosoklija G.B., Tamir H., Arango V., Mann J. Hippocampal granule neuron number and dentate gyrus volume in antidepressant-treated and untreated major depression. *Neuropsychopharmacol*. 2013; 38: 6: 1068–1077.

40. Castren E. Neurotrophic effects of antidepressant drugs. *Curr. Opin. Pharmacol*. 2004; 4: 58–64.

41. Pandey G.N., Ren X., Rizavi H.S., Conley R.R., Roberts R.C., Dwivedi Y. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims. *Int. J. Neuropsychopharmacol*. 2008; 11: 1047–1061.

42. Pham K., Nacher J., Hof P.R., McEwen B.S. Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSANCAM expression in adult rat dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci*. 2003; 17: 879–886.

43. Masi G., Brovedani P. The Hippocampus, Neurotrophic Factors and Depression. Possible implications for the pharmacotherapy of depression. *CNS Drugs*. 2011; 25: 11: 913–932.

44. Dwivedi Y. Involvement of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Late-Life Depression. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*. 2013; 21: 5: 433–449.

45. Saarelainen T., Hendolin P., Lucas G., Koponen E., Sairanen M., MacDonald E., Agerman K., Haapasalo A., Nawa H., Aloyz R., Ernfors P., Castrén E. Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for anti-depressant-induced behavioral effects. *J. Neurosci*. 2003; 23: 1: 349–357.

46. Santarelli L., Saxe M., Gross C., Surget A., Battaglia F., Dulawa S., Weisstaub N., Lee J., Duman R., Arancio O., Belzung C., Hen R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*. 2003; 301: 805–809.

47. Phillips L.J., McGorry P.D., Garner B., Thompson K.N., Pantelis C., Wood S.J., Berger G. Stress, the hippocampus and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implication for the development of psychotic disorders. *Aust. N. Z. J. Psychiatry*. 2006; 40: 9: 725–741.

48. Figlewicz D.P. Endocrine regulation of neurotransmitter transport. *Epilepsy Res*. 1999; 37: 203–210.

49. Huang G.J., Herbert J. The role of 5-HT1A receptors in the proliferation and survival of progenitor cells in the dentate gyrus of the adult hippocampus and their regulation by corticoids. *Neurosci*. 2005; 135: 803–813.

50. Merlio J.P., Ernfors P., Jaber M., Persson H. Molecular cloning of rat trkC and distribution of cells expressing messenger RNAs for members of the trk family in the rat central nervous system. *Neurosci*. 1992; 51: 513–532.

51. Anderson K.D., Alderson R.F., Altar C.A., DiStefano P.S., Corcoran T.L., Lindsay R.M., Wiegand S.J. Differential distribution of exogenous BDNF, NGF, and NT-3 in the brain corresponds to the relative abundance and distribution of high-affinity and low-affinity neurotrophin receptors. *J. Comp. Neurol*. 1995; 357: 296–317.

52. Lyons W.E., Mamounas L.A., Ricaurte G.A., Coppola V., Reid S.W., Bora S.H., Wihler C., Koliatsos V.E., Tessarollo L. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1999; 96: 15239–15244.

53. Soliman F., Glatt C.E., Bath K.G., Levita L., Jones R.M., Pattwell S.S., Jing D., Tottenham N., Anso D., Somerville L.H., Voss H.U., Glover G., Ballon D.J., Liston C., Teslovich T., Van Kempen T., Lee F.S., Casey B.J. A genetic variant BDNF polymorphism alters extinction learning in both mouse and human. *Science*. 2010; 327: 863–866.

54. Numata S., Ueno S., Iga J., Yamauchi K., Hongwei S., Ohta K., Kinouchi S., Tayoshi S., Aono M., Kameoka N., Sumitani S., Tomotake M., Kaneda Y., Taniguchi T., Ishimoto Y., Ohmori T. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met polymorphism in schizophrenia is associated with age at onset and symptoms. *Neurosci. Lett*. 2006; 401: 1–5.

55. Ribases M., Gratacos M., Fernandez-Aranda F., Bellodi L., Boni C., Anderlueh M., Cristina Cavallini M., Cellini E., Di Bella D., Erzegovesi S., Foulon C., Gabrovsek M., Gorwood P., Hebebrand J., Hinney A., Holliday J., Hu X., Karwautz A., Kipman A., Komel R., Nacmias B., Remschmidt H., Ricca V., Sorbi S., Tomori M., Wagner G., Treasure J., Collier D.A., Estivill X. Association of BDNF with restricting anorexia nervosa and minimum body mass index: a family-based association study of eight European populations. *Eur. J. Hum. Genet.* 2005; 13: 428–434.
56. Dmierzak-Weglarz M., Skibinska M., Slopian A., Szczepankiewicz A., Rybakowski F., Kramer L., Hauser J., Rajewski A. BDNF Met66 allele is associated with anorexia nervosa in the Polish population. *Psychiatr. Genet.* 2007; 17: 245–246.
57. Knable M.B., Barci B.M., Webster M.J., Meador-Woodruff J., Torrey E.F. Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. *Mol. Psychiatr.* 2004; 9: 609–620.
58. Weickert C.S., Hyde T.M., Lipska B.K., Herman M.M., Weinberger D.R., Kleinman J.E. Reduced brain-derived neurotrophic factor in prefrontal cortex of patients with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 2003; 8: 592–610.
59. Suliman S., Hemmings S.M.J., Seedat S. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein levels in anxiety disorders: systematic review and meta-regression analysis. *Frontiers in Integrative Neurosci.* 2013; 7: 55. doi:10.3389/fnint.2013.00055.
60. Hashimoto K., Koizumi H., Nakazato M., Shimizu E., Iyo M. Role of brain-derived neurotrophic factor in eating disorders: recent findings and its pathophysiological implications. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatr.* 2005; 29: 499–504.
61. Lindholm J.S.O., Castrén E. Mice with altered BDNF signaling as models for mood disorders and antidepressant effects. *Frontiers in Behav. Neurosci.* 2014; 8: 143. doi:10.3389/fnbeh.2014.00143.
62. Rattiner L.M., Davis M., French C.T., Ressler K.J. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B involvement in amygdala-dependent fear conditioning. *J. Neurosci.* 2004; 24: 4796–4806.
63. Monteggia L.M., Barrot M., Powell C.M., Berton O., Galanis V., Gemelli T., Meuth S., Nagy A., Greene R.W., Nestler E.J. Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2004; 101: 10827–10832.
64. Kline D.D., Ogier M., Kunze D.L., Katz D.M. Exogenous brain-derived neurotrophic factor rescues synaptic dysfunction in Mecp2-null mice. *J. Neurosci.* 2010; 30: 5303–5310.
65. Kaplan D.R., Miller F.D. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Current Opinion in Neurobiology.* 2000; 10: 3: 381–391.
66. Binder D.K., Scharfman H.E. Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors.* 2004; 22: 3: 123–131.
67. Patapoutian A., Reichardt L.F. Trk receptors: mediators of neurotrophin action. *Current Opinion in Neurobiology.* 2001; 11: 3: 272–280.
68. Bibel M., Hoppe E., Barde Y.A. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors trk and p75(NTR). *EMBO J.* 1999; 18: 3: 616–622.
69. Kraemer B.R., Yoon S.O., Carter B.D. The biological functions and signaling mechanisms of the p75 neurotrophin receptor. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2014; 220: 121–164.
70. McDonald N.Q., Lapatto R., Murray-Rust J., Gunning J., Wlodawer A., Blundell T.L. New protein fold revealed by a 2.3-Å resolution crystal structure of nerve growth factor. *Nature.* 1991; 354: 6352: 411–414.
71. Butte M.J., Hwang P.K., Mobley W.C., Fletterick R.J. Crystal structure of neurotrophin-3 homodimer shows distinct regions are used to bind its receptors. *Biochemistry.* 1998; 37: 48: 16846–16852.
72. Robinson R.C., Radziejewski C., Spraggon G., Greenwald J., Kostura M.R., Burtnick L.D., Stuart D.I., Choe S., Jones E.Y. The structures of the neurotrophin 4 homodimer and the brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin 4 heterodimer reveal a common Trk-binding site. *Protein Sci.* 1999; 8: 12: 2589–2597.
73. Ryden M., Murray-Rust J., Glass D., Ilag L.L., Trupp M., Yancopoulos G.D., McDonald N.Q., Ibáñez C.F. Functional analysis of mutant neurotrophins deficient in low-affinity binding reveals a role for p75LNGFR in NT-4 signalling. *EMBO J.* 1995; 14: 1979–1990.
74. O'Leary P.D., Hughes R.A. Structure-activity relationships of conformationally constrained peptide analogues of loop 2 of brain-derived neurotrophic factor. *J. Neurochem.* 1998; 70: 1712–1721.
75. Robinson R.C., Radziejewski C., Stuart D.I., Jones E.Y. Structure of the brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin 3 heterodimer. *Biochemistry.* 1995; 34: 4139–4146.
76. Ibáñez C.F., Ilag L.L., Murray-Rust J., Persson H. An extended surface of binding to Trk tyrosine kinase receptors in NGF and BDNF allows the engineering of a multifunctional pan-neurotrophin. *EMBO J.* 1993; 12: 2281–2293.
77. O'Leary P.D., Hughes R.A. Design of potent peptide mimetics of brain-derived neurotrophic factor. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 11: 25738–25744.
78. Fletcher J.M., Hughes R.A. Novel monocyclic and bicyclic loop mimetics of brain-derived neurotrophic factor. *J. Pept. Sci.* 2006; 12: 515–524.
79. Fletcher J.M., Morton C.J., Zwar R.A., Murray S.S., O'Leary P.D., Hughes R.A. Design of a conformationally defined and proteolytically stable circular mimetic of brain-derived neurotrophic factor. *J. Biol. Chem.* 2008; 283: 33375–33383.
80. Xiao J., Hughes R.A., Lim J.Y., Wong A.W., Ivanusic J.J., Ferner A.H., Kilpatrick T.J., Murray S.S. A small peptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor promotes peripheral myelination. *J. Neurochemistry.* 2013; 125: 386–398.
81. Wong A.W., Giuffrida L., Wood R., Peckham H., Gonsalvez D., Murray S.S., Hughes R.A., Xiao J. TDP6, a brain-derived neurotrophic factor-based trkB peptide mimetic, promotes oligodendrocyte myelination. *Mol. Cell. Neurosci.* 2014; 63: 132–140.
82. Fletcher J.M., Hughes R.A. Modified low molecular weight cyclic peptides as mimetics of BDNF with improved potency, proteolytic stability and transmembrane passage in vitro. *Bioorg. Med. Chem.* 2009; 17: 2695–2702.
83. Massa S.M., Yang T., Xie Y., Shi J., Bilgen M., Joyce J.N., Nehama D., Rajadas J., Longo F.M. Small molecule BDNF mimetics activate TrkB signaling and prevent neuronal degeneration in rodents. *J. Clin. Invest.* 2010; 120: 5: 1774–1785.
84. Ibáñez C.F., Ebendal T., Persson H. Chimeric molecules with multiple neurotrophic activities reveal structural elements determining the specificities of NGF and BDNF. *EMBO J.* 1991; 10: 8: 2105–2110.
85. Kron M., Lang M., Adams I.T., Sceniak M., Longo F., Katz D.M. A BDNF loop-domain mimetic acutely reverses spontaneous apnea and respiratory abnormalities during behavioral arousal in a mouse model of Rett syndrome. *Disease Models & Mechanisms.* 2014; 7: 1047–1055.
86. Kajiya M., Takeshita K., Kittaka M., Matsuda S., Ouhara K., Takeda K., Takata T., Kitagawa M., Fujita T., Shiba H., Kurihara H. BDNF mimetic compound LM22A-4 regulates cementoblast differentiation via the /Akt signaling cascade. *Int. Immunopharmacol.* 2014; 19: 2: 245–252.
87. Cardenas-Aguayo M.C., Kazim S.F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K. Neurogenic and Neurotrophic Effects of BDNF Peptides in Mouse Hippocampal Primary Neuronal Cell Cultures. *PLoS ONE.* 2013; 8: 1: 1–18.
88. Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Помогайбо С.В., Логвинов И.О., Поварнина П.Ю., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора. *Биоорганическая химия.* 2012; 38: 3: 280–290.
89. Гудашева Т.А., Логвинов И.О., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Дипептидный миметик 4-й петли мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 активует TrkB, Erk, Akt и способствует выживаемости нейронов in vitro. *Доклады академии наук.* 2013; 451: 5: 577–580.
90. Логвинов И.О., Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Антипов П.И., Середенин С.Б. Нейропротективные свойства дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 в экспериментах in vitro. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2013; 155: 3: 319–322.
91. Gudashева T.A., Povarnina P.Yu., Logvinov I.O., Antipova T.A., Seredenin S.B. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats. *Drug Design, Development and Therapy.* 2016; 10: 3545–3553.
92. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Гудашева Т.А., Гарибова Т.Л., Молодавкин Г.М., Литвинова С.А., Елизарова О.А., Посева В.И. Антидепрессивный эффект оригинального низкомолекулярного миметика BDNF, димерного дипептида ГСБ-106. *Acta Naturae.* 2013; 5: 4 (19): 116–120.
93. Гудашева Т.А., Поварнина П.Ю., Середенин С.Б. Дипептидный миметик мозгового нейротрофического фактора предотвращает нарушение нейрогенеза у стрессированных мышей. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2016; 162: 10: 448–451.