

DOI 10.18699/vjgb-24-45

Действие амисульприда на экспрессию серотониновых рецепторов, нейротрофического фактора BDNF и его рецепторов при сверхэкспрессии склонного к агрегации тау-белка с мутацией [R406W] у мышей

Е.М. Кондаурова[#]  , А.А. Комарова[#], Т.В. Ильчибаева , А.Я. Родный , Е.А. Заливина, В.С. Науменко 

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

 kond_em@bionet.nsc.ru

Аннотация. Серотониновые рецепторы 5-HT₇ (5-HT7R) привлекают все больше внимания в качестве одного из важных звеньев в механизмах развития болезни Альцгеймера и возможной мишени для лечения различных тау-патологий. В настоящей работе исследовано влияние амисульприда (обратный агонист 5-HT7R) в модели экспериментального повышения экспрессии гена, кодирующего склонный к агрегации белок человека Tau[R406W], в префронтальной коре мышей линии C57BL/6J на кратковременную память и экспрессию генов, участвующих в развитии таупатии (*Htr7* и *Cdk5*), а также биомаркеров нейродегенеративных процессов – гена *Bdnf* и его рецепторов TrkB (ген *Ntrk2*) и p75^{NTR} (ген *Ngfr*). В тесте на кратковременную память мыши не было обнаружено различия по индексу дискриминации между мышами, которым вводили AAV-Tau[R406W], и мышами с AAV-EGFP. Амисульприд не повлиял на данный показатель. Введение AAV-Tau[R406W] привело к повышению экспрессии генов *Htr7*, *Htr1a* и *Cdk5* в префронтальной коре по сравнению с животными группы AAV-EGFP. При этом амисульприд в дозе 10 мг/кг у животных группы AAV-Tau[R406W] вызвал снижение уровня мРНК генов *Htr7* и *Htr1a* по сравнению с животными группы AAV-Tau[R406W], которым вводили физиологический раствор. Выявлено снижение экспрессии генов *Bdnf* и *Ntrk2* в префронтальной коре после введения AAV-Tau[R406W]. При этом амисульприд в различных дозах (3 и 10 мг/кг) вызывал такое же снижение транскрипции этих генов у мышей без таупатии. Интересно также, что у мышей группы AAV-EGFP после введения амисульприда в дозе 10 мг/кг повышался уровень мРНК гена *Ngfr*. Полученные данные позволяют рассматривать амисульприд в качестве агента для восстановления нормальной функции тау-белка. Однако следует учитывать возможный негативный эффект амисульприда при длительном применении, отражающийся в увеличении экспрессии гена *Ngfr* и снижении экспрессии генов *Bdnf* и *Ntrk2*, что может указывать на усиление нейродегенеративных процессов.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; тау-белок; амисульприд; 5-HT₇-рецептор; киназа *Cdk5*; *Bdnf*; *Ngfr*; *Ntrk2*; мыши.

Для цитирования: Кондаурова Е.М., Комарова А.А., Ильчибаева Т.В., Родный А.Я., Заливина Е.А., Науменко В.С. Действие амисульприда на экспрессию серотониновых рецепторов, нейротрофического фактора BDNF и его рецепторов при сверхэкспрессии склонного к агрегации тау-белка с мутацией [R406W] у мышей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024;28(4):398-406. DOI 10.18699/vjgb-24-45

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00011).

Благодарности. Содержание и разведение животных поддержано бюджетным проектом FWNR-2022-0023.

Effect of amisulpride on the expression of serotonin receptors, neurotrophic factor BDNF and its receptors in mice with overexpression of the aggregation-prone [R406W] mutant tau protein

Е.М. Kondaurova[#]  , А.А. Komarova[#], Т.В. Ilchibaeva , А.Я. Rodnyy , Е.А. Zalivina, V.S. Naumenko 

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 kond_em@bionet.nsc.ru

Abstract. Serotonin 5-HT₇ receptors (5-HT7R) are attracting increasing attention as important participants in the mechanisms of Alzheimer's disease and as a possible target for the treatment of various tau pathologies. In this study, we investigated the effects of amisulpride (5-HT7R inverse agonist) in C57BL/6J mice with experimentally induced expression of the gene encoding the aggregation-prone human Tau[R406W] protein in the prefrontal cortex. In these

animals we examined short-term memory and the expression of genes involved in the development of tauopathy (*Htr7* and *Cdk5*), as well as biomarkers of neurodegenerative processes – the *Bdnf* gene and its receptors TrkB (the *Ntrk2* gene) and p75^{NTR} (the *Ngfr* gene). In a short-term memory test, there was no difference in the discrimination index between mice treated with AAV-Tau[R406W] and mice treated with AAV-EGFP. Amisulpride did not affect this parameter. Administration of AAV-Tau[R406W] resulted in increased expression of the *Htr7*, *Htr1a*, and *Cdk5* genes in the prefrontal cortex compared to AAV-EGFP animals. At the same time, amisulpride at the dose of 10 mg/kg in animals from the AAV-Tau[R406W] group caused a decrease in the *Htr7*, *Htr1a* genes mRNA levels compared to animals from the AAV-Tau[R406W] group treated with saline. A decrease in the expression of the *Bdnf* and *Ntrk2* genes in the prefrontal cortex was revealed after administration of AAV-Tau[R406W]. Moreover, amisulpride at various doses (3 and 10 mg/kg) caused the same decrease in the transcription of these genes in mice without tauopathy. It is also interesting that in mice of the AAV-EGFP group, administration of amisulpride at the dose of 10 mg/kg increased the *Ngfr* gene mRNA level. The data obtained allow us to propose the use of amisulpride in restoring normal tau protein function. However, it should be noted that prolonged administration may result in adverse effects such as an increase in *Ngfr* expression and a decrease in *Bdnf* and *Ntrk2* expression, which is probably indicative of an increase in neurodegenerative processes.

Key words: Alzheimer's disease; tau protein; amisulpride; 5-HT₇ receptor; Cdk5 kinase; *Bdnf*; *Ngfr*; *Ntrk2*; mice.

For citation: Kondaurova E.M., Komarova A.A., Ilchibaeva T.V., Rodnyy A.Ya., Zalivina E.A., Naumenko V.S. Effect of amisulpride on the expression of serotonin receptors, neurotrophic factor BDNF and its receptors in mice with over-expression of the aggregation-prone [R406W] mutant tau protein. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(4):398-406. DOI 10.18699/vjgb-24-45

Введение

Хорошо известно, что тау-белок играет важную роль в поддержании структуры аксонов и их росте, влияет на формирование полярности нейронов, аксональный транспорт и нейропластичность (Arendt et al., 2012). Однако при гиперфосфорилировании тау-белок теряет нормальную способность стабилизировать микротрубочки и агрегирует в клетке с образованием патоморфологических структур – парных спиральных филаментов и нейрофибрилярных клубков (Grundke-Iqbal et al., 1986). Это приводит к нарушению функций тау-белка и вызывает различные таупатии, в том числе болезнь Альцгеймера (БА).

В настоящее время обнаружено более 50 различных патогенных мутаций гена *MAPT*, кодирующего тау-белок. Большинство из этих мутаций – экзонные, происходят в областях, кодирующих С-концевой домен, связывающий микротрубочки (Strang et al., 2019). Мутации в кодирующих последовательностях – в основном миссенс-мутации, хотя есть также данные о делециях (Rovelet-Lecruх et al., 2009). Наиболее распространенные их проявления – это нарушения связывания с микротрубочками и, как следствие, их дисфункция, в то время как влияние на склонность к агрегации тау-белка *in vivo* наблюдается лишь для некоторых мутаций (Xia et al., 2019).

Одна из мутаций гена *MAPT*, Tau[R406W], вызывает агрегацию белка из-за сниженной способности фосфорилированной формы связываться с микротрубочками (Perez et al., 2000). Данная мутация (находится в 13-м экзоне гена *MAPT*) приводит к замене аргинина на триптофан в позиции 406 (p.R406W) и вызывает семейную лобно-височную долевою дегенерацию с тау-патологией (FTLD-tau). Частота мутации p.R406W составляет 0.62 % среди пациентов с FTLD-tau и 0.26 % среди пациентов с БА (Gossye et al., 2023). Расположение этой мутации вблизи участка MTBR (microtubule-binding region) может влиять на способность этой области вызывать конформационные изменения в соседнем MTBR (Xia et al., 2019). Важным фактом является то, что мутация R406W распо-

лагается рядом с ключевыми аминокислотными остатками (Ser396, Ser404), которые фосфорилируются в тау-белке при формировании патологических парных спиральных филаментов (Hutton et al., 1998).

С другой стороны, известно, что серотониновая (5-HT) система мозга также может играть важную роль в патологическом развитии и клинических проявлениях первичных таупатий, включая лобно-височную деменцию, прогрессирующий надъядерный паралич и кортикобазальную дегенерацию (Huey et al., 2006; Murley, Rowe, 2018). Свою функцию 5-HT-система реализует посредством многочисленных рецепторов. В настоящее время увеличивается число исследований, направленных на изучение роли 5-HT-рецепторов в механизмах развития таупатий и БА (Еремин и др., 2023).

В связи с этой проблемой особое внимание привлекают 5-HT₇-рецепторы (5-HT_{7R}). Так, в недавних исследованиях было продемонстрировано, что конститутивная активность 5-HT_{7R} индуцирует гиперфосфорилирование тау-белка и его последующую агрегацию посредством взаимодействия с киназой CDK5. Кроме того, применение высокоселективного обратного агониста 5-HT_{7R} SB-269970 предотвращает индуцированное рецептором накопление и гиперфосфорилирование тау-белка (Labus et al., 2021).

Показано, что амисульприд (препарат, обладающий антипсихотическим, антидепрессантным и прокогнитивным эффектами) – сильный обратный агонист 5-HT_{7R}, способен влиять на гиперфосфорилирование тау-белка. Терапевтический потенциал амисульприда в предотвращении/диспергировании агрегации тау-белка и тау-опосредованной патологии подтвержден *in vitro* (в клетках Tau-BiFC HEK293 и в кортикальных нейронах человека, несущих мутацию Tau[R406W]) и *in vivo* (у мышей, сверхэкспрессирующих мутантный Tau[R406W] белок человека в префронтальной коре, и у трансгенных мышей, экспрессирующих мутантный Tau[P301L] белок человека). В этих животных моделях таупатии лечение амисульпри-

дом предотвращало гиперфосфорилирование, агрегацию и нейротоксичность тау-белка, а также устраняло нарушения памяти у мышей обеих линий (Jahreis et al., 2023).

Кроме того, было показано, что хроническое введение амисульприда крысам линии OXYS – спорадической модели БА (Stefanova et al., 2015) – уменьшало фосфорилирование тау-белка в коре и гиппокампе 3-месячных животных (Molobekova et al., 2023). Помимо этого, в гиппокампе 1- и 3-месячных крыс амисульприд снижал еще и уровень мРНК гена киназы *Cdk5* (Molobekova et al., 2023).

Известно, что прогрессирование таупатий и БА вызывает развитие атрофии нервных клеток в коре головного мозга, гиппокампе и других подкорковых структурах (Bettens et al., 2010). Так, было обнаружено, что мутация Tau[R406W] вызывает нарушения в генах, связанных с нейрогенезом и синаптической функцией, в нейронах мышей (Minaya et al., 2023). Среди биомаркеров нейродегенеративных процессов широко известен нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), уровень мРНК и белка которого снижается при БА в коре больших полушарий и гиппокампе (Hock et al., 2000). Вызываемые BDNF процессы роста и развития нейронов опосредуются его рецепторами – тирозинкиназным рецептором В (TrkB) и общим рецептором нейротрофинов р75 (р75^{NTR}), связывающими BDNF и proBDNF соответственно. Накапливающиеся данные указывают на взаимосвязь между 5-НТ и BDNF; предполагается, что обе системы могут контролировать функции друг друга, действуя через общие внутриклеточные сигнальные пути. Баланс в функционировании систем 5-НТ и BDNF, по-видимому, является принципиальным для развития нормального фенотипа (Pорова, Naumenko, 2019).

Цель настоящей работы – исследование влияния амисульприда в модели экспериментального повышения экспрессии гена Tau[R406W] (при помощи аденоассоциированного вирусного конструкта *in vivo*) в префронтальной коре на кратковременную память и экспрессию генов *Htr7* и *Cdk5*, участвующих в развитии таупатии, а также гена BDNF и его рецепторов (*Ntrk2* (кодирует TrkB) и *Ngfr* (кодирует р75^{NTR})) у мышей.

Материалы и методы

Животные. Эксперименты проводили на 2-месячных самцах мышей линии C57BL/6J. Исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023). Содержание и тестирование животных проводили в соответствии с инструкцией по содержанию и использованию лабораторных животных (National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NIH Publications, 2010).

Плазмида. Плазмиды, несущие под контролем синапсного промотора гены Tau[R406W] и EGFP (enhanced green fluorescent protein) или только EGFP, получены от профессора Е.Г. Понимаскина (Hannover Medical School, Ганновер, Германия).

Трансфекция клеток. Упаковку плазмид pAAV_SynH1-2_Tau[R406W]-EGFP и pAAV_SynH1-2_EGFP в аденоассоциированные вирусные (AAV) капсиды вы-

полняли путем котрансфекции плазмидами AAV-DJ и pHelper (Cell Biolabs, Inc., США) в клетки HEK293FT, которые инкубировали по протоколу, описанному ранее (Kondaurova et al., 2021). Вирусные частицы собирали через 48 ч в соответствии с протоколом из работы D. Grimm с коллегами (2003). Количество полученных вирусных частиц определяли при проведении количественного ПЦР-анализа в реальном времени и разводили до концентрации 10⁹ вирусных частиц/мкл.

Стереотаксическая инъекция. Перед проведением процедуры животных наркотизировали смесью 2,2,2-трибромэтанола и 2-метил-2-бутанола, помещали в стереотаксическую установку (TSE Systems, Германия). В черепе были просверлены два отверстия согласно координатам: AP: +1.5 мм, LR: ±1 мм, DV: 1 мм (<http://labs.gaidi.ca/mouse-brain-atlas/?ml=1.5&ap=-2&dv=2>). Мышам обеих групп (по 36 самцов AAV-Tau[R406W] и AAV-EGFP) производили двустороннее введение вирусного конструкта AAV-Tau[R406W]-EGFP или AAV-EGFP в префронтальную кору. После инъекций разрез зашивали прерывистым швом, животное помещали в теплую клетку (Kondaurova et al., 2021).

Фармакологическое воздействие. Через семь дней после введения AAV каждую из групп разделили на три подгруппы по 12 мышей. Эффект хронического введения амисульприда (Sanofi-Aventis France, Франция) оценивали после 4 недель внутрибрюшинного введения препарата в дозах 3 и 10 мг/кг для первой и второй подгруппы соответственно в объеме 10 мкл/г. Животным третьей подгруппы вводили физиологический раствор в том же объеме. За два дня до проведения экспериментов мышам рассаживали по индивидуальным клеткам для снятия группового эффекта.

Тест «открытое поле». Для теста «открытое поле» использовали круглую арену, освещенную через матовый полупрозрачный пол двумя 12 Вт галогеновыми лампами, расположенными на 40 см ниже пола арены (Kulikov et al., 2008). Мышь помещали рядом со стеной, после чего поведение животного регистрировали в течение 5 мин с помощью камеры, расположенной на расстоянии 80 см от арены. Арену обрабатывали 70 % спиртом после каждого теста. Видеопоток с камеры был проанализирован кадровой с помощью оригинального программного обеспечения EthoStudio (Khotskin et al., 2019). Автоматически измеряли длину пути (горизонтальная активность).

Тест на кратковременную память (recency test) делали в рамках парадигмы теста «открытое поле». На первом этапе этого теста животным предъявляли два одинаковых объекта (пластиковые кубики размером 5 × 5 см – старый объект), расположенных в центре арены на расстоянии 8–10 см друг от друга и 10 см от стенок арены. Животных тестировали в течение 10 мин. Через 90 мин после первого теста животным предъявляли два других объекта (пластиковые стаканчики диаметром 4 см и высотой 5 см – новый объект), расположенных в центре арены на расстоянии 8–10 см друг от друга и 10 см от стенок арены. Животных тестировали в течение 10 мин. Через 90 мин после второго этапа один из предъявленных объектов заменяли на первый объект (пластиковые кубики размером 5 × 5 см). Животных тестировали в течение 10 мин.

Оценивали время подходов к новому и к старому объекту. Затем высчитывали дискриминацию по формуле (время у нового объекта – время у старого объекта)/суммарное время у обоих объектов.

Диссекция образцов мозга. После проведения поведенческих тестов через 48 ч животных выводили из эксперимента посредством декапитации. Сразу же после эвтаназии проводили извлечение мозга и помещение необходимых структур (префронтальная кора, гиппокамп) в пробирки в жидкий азот. До дальнейших процедур структуры хранили в низкотемпературном холодильнике при температуре -80°C .

Флуоресцентная микроскопия. Через 6 недель после инъекции AAV в префронтальную кору мышам (по одной-две мыши из каждой группы) под анестезией выполняли транскардиальную перфузию 20 мл фосфатно-солевого буфера (PBS) и 20 мл 4 % раствора параформальдегида. Головной мозг извлекали и затем фиксировали 4 % параформальдегидом в течение 16 ч и погружали в 30 % сахарозу в PBS на два дня. Последовательные срезы размером 12 мкм делали с помощью криотома (Thermo Scientific, Германия). Ядра клеток окрашивали раствором бис-бензида (краситель Hoechst 33258, 5 мкг/мл в PBS (Sigma-Aldrich, Германия). Затем срезы монтировали под покровное стекло, используя среду Fluoromount G (Southern Biotechnology Associates, США). Полученные срезы исследовали с помощью конфокального микроскопа Olympus IX83P2ZF.

Выделение РНК. Структуру мозга гомогенизировали в 300 мкл TRIzol Reagent (Life Technologies, США) по протоколу производителя. Полученный осадок РНК растворяли в 24.5 мкл воды, обработанной диэтилпирикарбонатом (ДЭПК). Для устранения возможных примесей геномной ДНК добавляли 0.5 мкл ДНКазы (RNase free DNase, Promega, США, 1000 о. е./мл), затем пробы инкубировали 15 мин при 37°C и после этого 10 мин – при 65°C . Определяли концентрации РНК с помощью спектрофотометра Nanodrop2000c (Thermo Fisher Scientific), после чего доводили до 125 нг/мкл. Хранили РНК при -80°C .

ОТ-ПЦР в реальном времени. Экспрессию генов определяли с применением количественного метода обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР), разработанного в нашей лаборатории (Kulikov et al., 2005; Науменко, Куликов, 2006; Naumenko et al., 2008). Использовали два типа стандартов: внешний и внутренний. Внутренний стандарт (гены домашнего хозяйства: *Polr2a* – ген РНК-полимеразы II и *B2m* – ген $\beta 2$ -микроглобулина) применяли для контроля обратной транскрипции в качестве основы для расчета уровня мРНК исследуемых генов. Внешним стандартом служила ДНК мыши известной концентрации, что позволило контролировать ПЦР и определять число копий мРНК исследуемых генов в образцах. Для определения уровня мРНК мы использовали отношение количества кДНК исследуемых генов к среднему геометрическому уровню кДНК генов *Polr2a* и *B2m*.

Праймеры для амплификации кДНК были подобраны на основе последовательностей, опубликованных в базе данных EMBL Nucleotide database, и синтезированы в

компании «Биоссет» (Новосибирск, Россия). ПЦР была проведена на амплификаторе Real-time CFX96 Touch (Bio-Rad, США) в соответствии со следующим протоколом: 3 мин 95°C ; 40 циклов с тремя этапами: 10 с при 95°C , 30 с при температуре отжига праймера, 20 с при 72°C (Приложение 1)¹.

Статистический анализ. Статистический анализ выполняли в программе GraphPadPrism 9.1.0. Для поиска выбросов в выборках применяли метод ROUT ($Q = 0.05$), найденные значения исключали из дальнейшего анализа. Нормальное распределение выборок проверяли с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Согласно этим критериям, все данные подчинялись закону нормального распределения. Для выявления различий между группами проводили двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) с апостериорным множественным сравнением по Фишеру. Результаты были представлены как $m \pm \text{SEM}$ (m – среднее; SEM – стандартная ошибка среднего). Статистически значимым различие считалось при $p < 0.05$.

Результаты

Для проверки правильности введения конструкторов использовали флуоресцентную микроскопию срезов мозга мыши. Срезы мозга в районе префронтальной коры продемонстрировали свечение при возбуждении светом длиной волны 488 нм с эмиссией на 510 нм, что подтверждает введение вирусного конструктора в нужную структуру мозга (рис. 1).

По наличию продукта гена *MAPT* (в среднем на 28-м цикле ПЦР) мы подтвердили экспрессию гена в префронтальной коре мышей, которым ввели конструктор AAV-Tau[R406W], в то время как у контрольных мышей (AAV-EGFP) не наблюдалась транскрипция этого гена (рис. 2).

В тесте «открытое поле» на двигательную активность мышей оказали влияние как введение конструктора ($F_{1,57} = 3.598, p = 0.063$), так и введение амисульприда ($F_{2,57} = 4.580, p = 0.014$), а также взаимодействие этих факторов ($F_{2,57} = 3.520, p = 0.036$). AAV-EGFP животные проявляли повышенную двигательную активность не только по сравнению с AAV-Tau[R406W] мышами ($p = 0.012$), но и относительно AAV-EGFP мышей, подвергавшихся действию амисульприда в дозе как 3 мг/кг ($p = 0.003$), так и 10 мг/кг ($p = 0.013$) (рис. 3).

Значения индекса дискриминации в “recency test” ни по фактору введения амисульприда ($F_{2,26} = 1.8, p > 0.05$), ни по фактору введения AAV ($F_{1,26} = 1.111, p > 0.05$) и их взаимодействию ($F_{2,26} = 1.6, p > 0.05$) не показали статистически значимых различий (рис. 4).

Были найдены значимые различия в уровне мРНК гена *Htr7* по взаимодействию факторов в префронтальной коре ($F_{2,44} = 7.059, p = 0.002$). Введение конструктора AAV-Tau[R406W] вызвало увеличение транскрипции гена *Htr7* ($p = 0.020$). Мы отмечали снижение уровня мРНК гена *Htr7* до нормы у группы мышей AAV-Tau[R406W], которым вводили амисульприд 10 мг/кг в коре ($p = 0.014$)

¹ Приложения 1 и 2 см. по адресу:
<https://vavilovj-icg.ru/download/pict-2024-28/appx15.pdf>

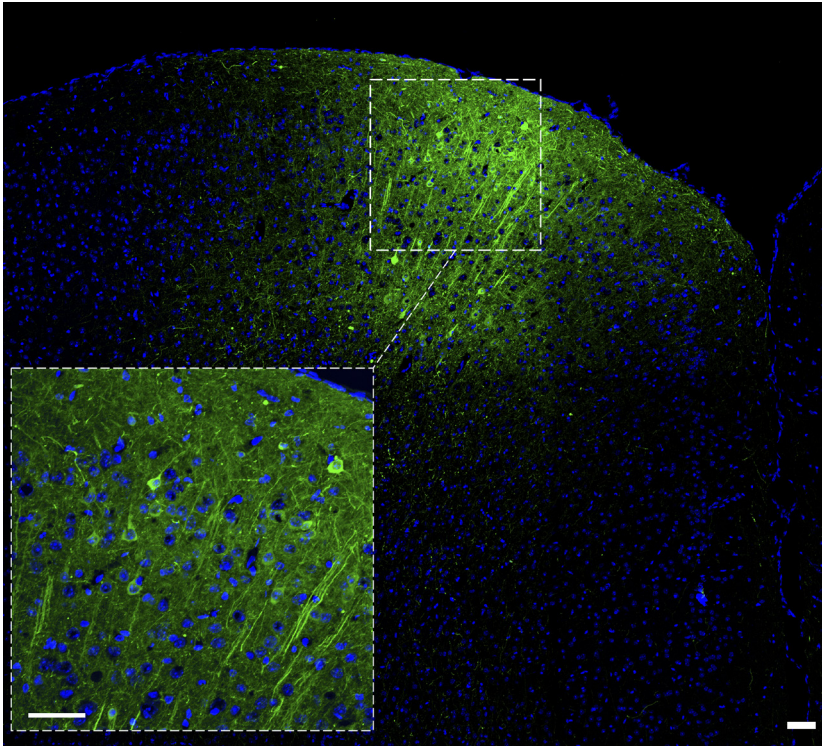


Рис. 1. Микрофотографии среза префронтальной коры мозга мыши, демонстрирующие успешную AAV-опосредованную трансфекцию клеток, на которую указывает экспрессия EGFP (enhanced green fluorescent protein).

Шкала 50 мкм.

(рис. 5, а). Введение amisulprida с концентрацией 3 мг/кг не показало подобного эффекта ($p = 0.157$). Интересно, что при введении препарата в дозе 10 мг/кг мышам группы AAV-EGFP наблюдалось увеличение уровня мРНК *Htr7* ($p = 0.004$) (см. рис. 5, а).

Для гена *Htr1a* в префронтальной коре (см. рис. 5, б) показаны аналогичные различия: наличие взаимодействия факторов ($F_{2,52} = 3.359$, $p = 0.043$) (Приложение 2), снижение транскрипции гена рецептора при введении 10 мг/кг amisulprida мышам AAV-Tau[R406W] группы ($p = 0.005$) и увеличение уровня мРНК при введении препарата в дозе 10 мг/кг у AAV-EGFP мышей ($p = 0.044$).

При анализе уровня мРНК гена *Cdk5* в префронтальной коре было выявлено взаимодействие факторов ($F_{2,48} = 7.182$, $p = 0.002$) (см. Приложение 2). Мы обнаружили, что уровень мРНК гена *Cdk5* AAV-Tau[R406W] группы, которая не подвергалась действию amisulprida, повышен относительно AAV-EGFP группы ($p = 0.021$), в то время как действие amisulprida в дозе 10 мг/кг привело к уменьшению транскрипции ($p = 0.004$) по сравнению с AAV-EGFP группой. Кроме того, транскрипция гена *Cdk5* увеличилась при действии amisulprida в концентрации 10 мг/кг на мышах AAV-EGFP по сравнению с AAV-EGFP животными, которым вводили физиологический раствор ($p = 0.001$) (рис. 6).

Мы исследовали влияние amisulprida на уровень мРНК нейротрофического фактора головного мозга *Bdnf* и его рецепторов *Ntrk2* (кодирует рецептор TrkB) и *Ngfr* (кодирует рецептор p75^{NTR}). В префронтальной коре для мРНК *Bdnf* наблюдалось влияние факторов введения конструкта, введения препарата и их взаимодействие, а для *Ntrk2* – влияние факторов введения конструкта и взаимодействие факторов (см. Приложение 2). Уровень мРНК *Bdnf* ($p < 0.001$) и *Ntrk2* ($p < 0.001$) снизился при сверхэкспрессии мутантного тау-белка по сравнению с AAV-EGFP мышами, которым вводили физиологический раствор.

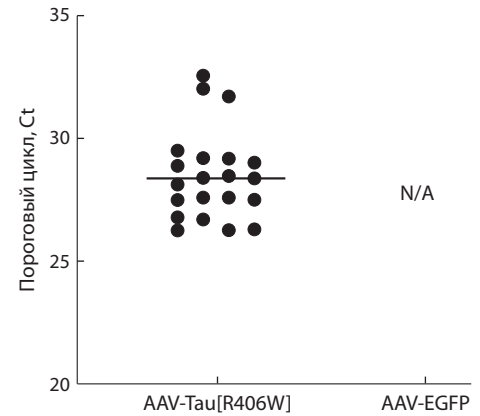


Рис. 2. Экспрессия (Ct) гена *MAPT* в префронтальной коре у мышей со сверхэкспрессией Tau[R406W].

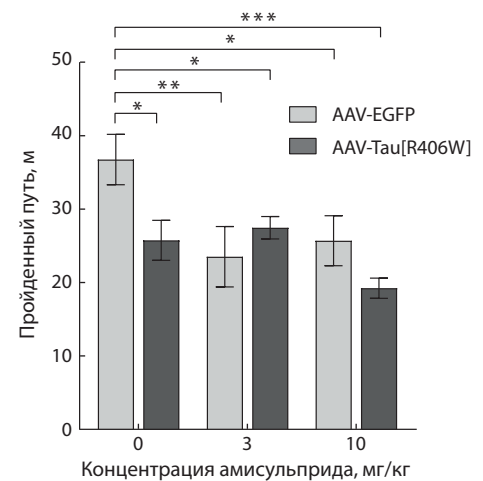


Рис. 3. Изменение двигательной активности мышей в тесте «открытое поле».

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

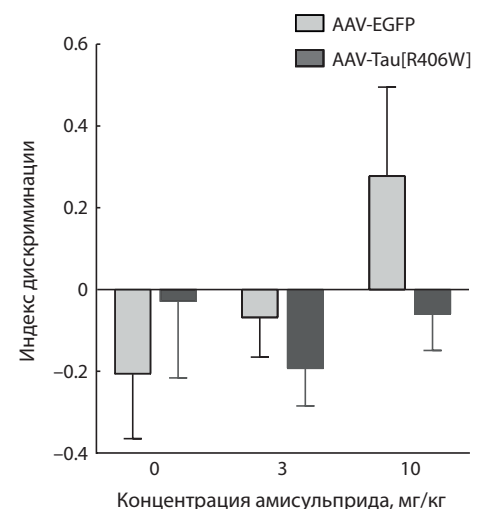


Рис. 4. Влияние amisulprida на индекс дискриминации в тесте «recency test».

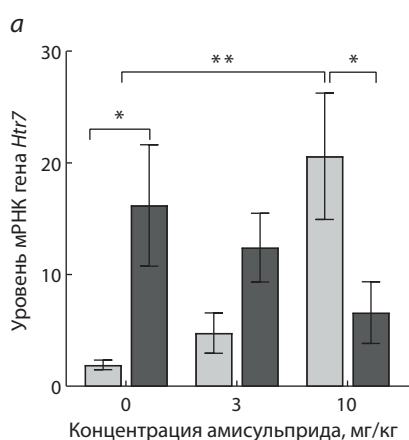


Рис. 5. Влияние амисульприда на транскрипцию генов *Htr7* (а) и *Htr1a* (б) в префронтальной коре мышей со сверхэкспрессией Tau[R406W].

Значения нормированы на среднее геометрическое мРНК генов *Polr2a* и *B2m*.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

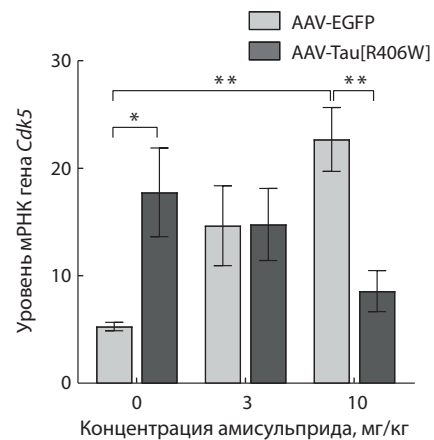
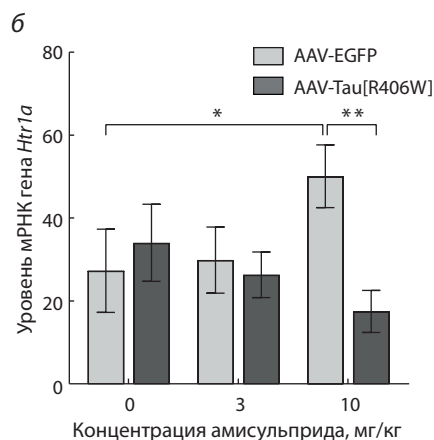


Рис. 6. Влияние амисульприда на транскрипцию гена *Cdk5* в префронтальной коре мышей со сверхэкспрессией тау-белка [R406W]. Значения нормированы на среднее геометрическое мРНК генов *Polr2a* и *B2m*.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

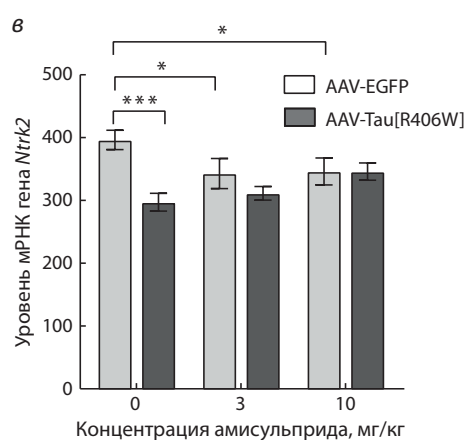
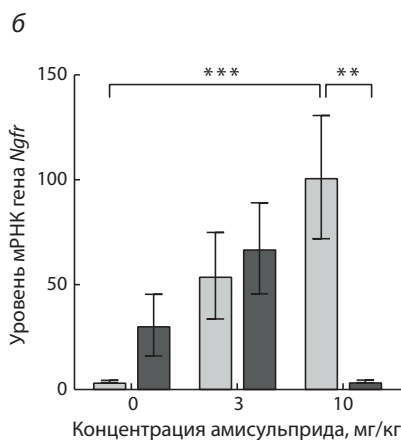
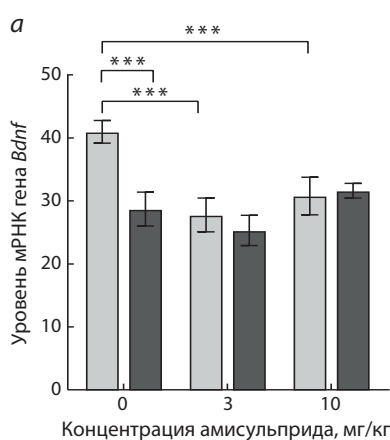


Рис. 7. Влияние амисульприда на транскрипцию генов *Bdnf* (а), *Ngfr* (б) и *Ntrk2* (в) в префронтальной коре мышей со сверхэкспрессией Tau[R406W].

Значения нормированы на среднее геометрическое мРНК генов *Polr2a* и *B2m*.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$.

Кроме этого, отмечено снижение уровня мРНК *Bdnf* ($p < 0.001$) и *Ntrk2* ($p = 0.037$) при действии препарата в дозе 3 мг/кг у AAV-EGFP мышей, а также при введении препарата в дозе 10 мг/кг AAV-EGFP мышам для *Bdnf* ($p = 0.004$) и *Ntrk2* ($p = 0.045$) (рис. 7, а, в). При этом на уровень мРНК гена *Ngfr* в префронтальной коре наблюдается влияние взаимодействия факторов ($F_{2,43} = 4.752$, $p = 0.014$) (см. Приложение 2). Уровень транскрипции гена *Ngfr* в коре AAV-EGFP мышей повышается в несколько раз при введении амисульприда в концентрации 10 мг/кг ($p = 0.002$), однако мыши со сверхэкспрессией Tau[R406W] показали снижение уровня мРНК этого гена при воздействии той же дозы ($p = 0.002$) (см. рис.7, б).

Статистически значимых различий по исследуемым генам в гиппокампе не обнаружено. В Приложение 2 представлены данные двухфакторного дисперсионного анализа по влиянию факторов введения конструктора, введения препарата и их взаимодействие.

Обсуждение

Исследование поведения животных в настоящей работе показало, что двигательная активность в тесте «открытое поле» снижена как у группы AAV-Tau[R406W] с физиологическим раствором, так и у групп, которым вводили амисульприд в разных дозах по сравнению с группой AAV-EGFP, получавшей физиологический раствор. Результаты теста совпадают с данными работы К. Jahreis с коллегами, в которой показано, что введение вектора с Tau[R406W] и лечение амисульпридом (1 мг/кг, 16 дней) снижает двигательную активность в тесте «открытое поле» по сравнению с контролем (Jahreis et al., 2023).

В нашей работе амисульприд не оказал существенного эффекта на кратковременную память животных с AAV-Tau[R406W], в отличие от исследования К. Jahreis с коллегами, которые показали повышение индекса дискриминации у мышей с AAV-Tau[R406W] и амисульпридом (Jahreis et al., 2023). В нашем эксперименте отсутствие

существенного влияния амисульприда на краткосрочную память, возможно, связано с тем, что период восстановления после введения вектора и начала терапии амисульпридом был семь дней, в отличие от работы К. Jahreis с коллегами, в которой период восстановления был три недели. Таким образом, вероятно, что для коррекции когнитивных способностей амисульпридом важно принимать во внимание стадию развития таупатии.

Мы обнаружили, что введение AAV-Tau[R406W] приводит к повышению уровня мРНК генов *Htr7* и *Cdk5* в префронтальной коре по сравнению с контрольными животными. Эти результаты, возможно, связаны с ответной реакцией, сопровождающейся запуском нейропротективных механизмов, в том числе с повышением уровня 5-HT₇R, как известно, вовлеченного в регуляцию морфологии нейронов, рост нейритов, дендритных шипиков и синаптогенез (Kobe et al., 2012). Однако недавно было показано (Solas et al., 2021), что в посмертных образцах мозга больных БА уровень мРНК гена *Htr7* снижен в передней префронтальной коре. Такой результат можно объяснить продолжительными нейродегенеративными процессами в мозге больных, в то время как в нашей работе воздействие конструкта с мутантным тау-белком составляло всего шесть недель.

Полученные нами результаты о повышенной транскрипции *Cdk5* у мышей с тау-патологией согласуются с работой (Labus et al., 2021), где показано, что именно CDK5 отвечает за патологическое влияние 5-HT₇R на гиперфосфорилирование тау-белка. При этом совместное снижение уровня мРНК как *Htr7*, так и *Cdk5* у мышей AAV-Tau[R406W], получавших амисульприд, до значений статистически не отличающихся от значений контрольных животных, также подтверждает предложенный механизм действия обратных агонистов 5-HT₇R в восстановлении нормальной функции тау-белка *in vivo*. Увеличение уровня мРНК *Htr7*, *Htr1a* и *Cdk5* после введения амисульприда в дозе 10 мг/кг AAV-EGFP мышам, вероятно, является компенсаторным ответом на ингибирование 5-HT₇-рецептора амисульпридом. Результаты по влиянию амисульприда на уровень мРНК *Cdk5* хорошо согласуются с данными, полученными на крысах линии OXYS: у еще здоровых одномесячных крыс амисульприд также повышал уровень мРНК *Cdk5* в коре (Molobekova et al., 2023).

Известно, что 5-HT_{1A}-рецепторы (5-HT_{1A}R) и 5-HT₇R могут образовывать гетеродимеры *in vitro* и *in vivo*, причем гетеродимеризация приводит к опосредованной агонистами интернализации 5-HT_{1A}-рецепторов (Renner et al., 2012). Хроническая активация 5-HT₇R вызывает десенсibilизацию этих рецепторов, а также понижает содержание и функциональную активность 5-HT_{1A}-рецепторов во фронтальной коре, не влияя при этом на содержание 5-HT₇R (Кондаурова и др., 2017). Показано также, что сверхэкспрессия 5-HT₇R в среднем мозге приводит к изменениям экспрессии гена 5-HT_{1A}R в зависимости от линии мышей, которой вводили вектор. У мышей инбредной линии C57Bl/6J было обнаружено снижение уровня мРНК гена 5-HT_{1A}R во фронтальной коре, тогда как у мышей ASC (antidepressant sensitive cataleptics) экспрессия этого гена была снижена в гиппокампе (Rodnyu et al., 2022). Амисульприд же является обратным агонистом 5-HT₇-

рецепторов, подавляет его конститутивную активность и, возможно, таким образом, может влиять на уровни мРНК самого гена по типу отрицательной обратной связи. Интересно отметить, что хроническое введение амисульприда в дозе 10 мг/кг привело к повышению экспрессии не только гена 5-HT₇R, но и гена 5-HT_{1A}R, что может быть связано со взаимной регуляцией этих рецепторов посредством их гетеродимеризации.

BDNF – один из самых изученных нейротрофических факторов. Он играет жизненно важную роль в процессах роста и созревания клеток мозга на всех стадиях развития, а также регулирования синаптической передачи и пластичности во взрослом возрасте (Edelmann et al., 2015). В контексте БА истощение BDNF связано с фосфорилированием и агрегацией тау-белка, накоплением Аβ, нейровоспалением и гибелью нейронов (Pisani et al., 2023). Стимуляция BDNF приводит к дефосфорилированию тау-белка за счет активации передачи сигналов TrkB и фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) (Elliott et al., 2005).

В этой работе мы обнаружили снижение уровня мРНК генов BDNF и его рецептора TrkB в коре после введения вектора AAV-Tau[R406W]. Эти данные хорошо соотносятся с тем, что при БА происходит снижение уровня BDNF (Song et al., 2015). Кроме того, мы показали, что введение амисульприда в разных дозах также снижает уровни мРНК этих генов как у AAV-EGFP мышей, так и у мышей с AAV-Tau[R406W]. Эти результаты противоречат ранее полученным данным о том, что амисульприд повышает уровень BDNF в клетках нейроblastомы человека SH-SY5Y (Park et al., 2011). Тем не менее существуют данные о том, что амисульприд не влияет на уровень мРНК *Bdnf* в другой клеточной модели – в клетках глиомы T98G (Jóźwiak-Bębenista et al., 2017). В исследовании E.N. Rizos с коллегами также не обнаружено влияния амисульприда на уровень BDNF в сыворотке крови пациентов с шизофренией (Rizos et al., 2010). При этом было выявлено увеличение экспрессии и фосфорилирования TrkB через 30 мин после активации 5-HT₇R (Samarajeeva et al., 2014).

С одной стороны, можно предположить, что механизмы действия амисульприда *in vitro* и *in vivo* различаются. Но, с другой стороны, показано, что в клетках нейроblastомы человека SH-SY5Y удлинение нервных волокон, вызванное инкубированием с 5-HT, фактором роста нервов (NGF) или нейротрофическим фактором головного мозга BDNF, блокируется антагонистами 5-HT₇R, а выключение гена *Htr7* также снижает длину нервных волокон. Активация же 5-HT₇R агонистами повышает экспрессию генов NGF и BDNF (Chang et al., 2022).

В недавней работе L.L. Shen с коллегами показано, что нокаут $p75^{NTR}$ приводит к снижению Аβ-индуцированного гиперфосфорилирования тау-белка и нейродегенерации как у здоровых мышей, так и в мышинной модели человеческой таупатии с участием киназ CDK5 и GSK3β (Shen et al., 2019). Эти данные позволяют предположить, что $p75^{NTR}$ по крайней мере частично опосредует тау-патологию, запускаемую Аβ-пептидом. Однако в нашей работе сверхэкспрессия Tau[R406W] не оказала достоверного влияния на уровень мРНК $p75^{NTR}$ -рецептора. При этом мы обнаружили, что амисульприд в несколько раз повышает транскрипцию гена рецептора $p75^{NTR}$ у AAV-EGFP

мышей. В литературе также имеются данные о негативном влиянии длительного введения амисульприда посредством снижения холин-ацетилтрансферазы (ChAT). В работе G.B. Huang с коллегами продемонстрировано, что длительное применение амисульприда (в течение 45 дней) приводит к снижению количества ChAT-положительных клеток в префронтальной коре, но не в гиппокампе крыс, и, таким образом, может оказывать негативное воздействие на когнитивные функции (Huang et al., 2012).

Заключение

Применение амисульприда при сверхэкспрессии Tau[R406W] привело к снижению уровня мРНК генов *Htr7* и *Cdk5* в префронтальной коре, что позволяет рассматривать этот препарат в качестве агента для восстановления нормальной функции тау-белка. Однако введение препарата мышам без таупатии вызвало уменьшение уровня мРНК генов *Bdnf* и *Ntrk2* в коре. При этом уровень мРНК *Htr7*, *Htr1a* и *Cdk5* повысился у AAV-EGFP мышей, которым вводили амисульприд. Эти изменения, вероятно, отражают негативный эффект хронического введения амисульприда, что косвенно подтверждается увеличением экспрессии гена $p75^{\text{NTR}}$ -рецептора, одной из функций которого является запуск апоптотических процессов.

Список литературы / References

Еремин Д.В., Кондаурова Е.М., Родный А.Я., Молобекова К.А., Кудлай Д.А., Науменко В.С. Серотониновые рецепторы – потенциальная мишень для лечения болезни Альцгеймера. *Биохимия*. 2023;88(12):2399-2421. DOI 10.31857/S0320972523120059 [Eremin D.V., Kondaurova E.M., Rodny A.Ya., Molobekova K.A., Kudlay D.A., Naumenko V.S. Serotonin receptors – a potential target for the treatment of Alzheimer’s disease. *Biokhimiya = Biochemistry*. 2023;88(12):2399-2421. DOI 10.31857/S0320972523120059 (in Russian)]

Кондаурова Е.М., Базовкина Д.В., Науменко В.С. Взаимодействие 5-HT_{1A}- и 5-HT₇-рецепторов: хроническая активация 5-HT₇-рецептора уменьшает содержание 5-HT_{1A}-рецептора и понижает его функциональную активность в мозге мышей. *Молекуляр. биология*. 2017;51(1):157-165. DOI 10.7868/S0026898416060100 [Kondaurova E.M., Bazovkina D.V., Naumenko V.S. 5-HT_{1A}/5-HT₇ receptor interplay: Chronic activation of 5-HT₇ receptors decreases the functional activity of 5-HT_{1A} receptor and its content in the mouse brain. *Molecular Biology*. 2017;51(1):136-142. DOI 10.1134/S0026893316060108]

Науменко В.С., Куликов А.В. Количественное определение экспрессии гена 5-HT_{1A} серотонинового рецептора в головном мозге. *Молекуляр. биология*. 2006;40(1):37-44 [Naumenko V.S., Kulikov A.V. Quantitative assay of 5-HT_{1A} receptor gene expression in the brain. *Molecular Biology*. 2006;40(1):30-36. DOI 10.1134/S0026893306010067]

Arendt D.H., Smith J.P., Bastida C.C., Prasad M.S., Oliver K.D., Eyster K.M., Summers T.R., Delville Y., Summers C.H. Contrasting hippocampal and amygdalar expression of genes related to neural plasticity during escape from social aggression. *Physiol. Behav.* 2012;107(5):670-679. DOI 10.1016/j.physbeh.2012.03.005

Bettens K., Slegers K., Van Broeckhoven C. Current status on Alzheimer disease molecular genetics: from past, to present, to future. *Hum. Mol. Genet.* 2010;19(R1):R4-R11. DOI 10.1093/hmg/ddq142

Chang W.Y., Yang Y.T., She M.P., Tu C.H., Lee T.C., Wu M.S., Sun C.H., Hsin L.W., Yu L.C. 5-HT(7) receptor-dependent intestinal neurite outgrowth contributes to visceral hypersensitivity in ir-

ritable bowel syndrome. *Lab. Invest.* 2022;102(9):1023-1037. DOI 10.1038/s41374-022-00800-z

Edelmann E., Cepeda-Prado E., Franck M., Lichtenacker P., Brigadski T., Lessmann V. Theta burst firing recruits BDNF release and signaling in postsynaptic CA1 neurons in spike-timing-dependent LTP. *Neuron*. 2015;86(4):1041-1054. DOI 10.1016/j.neuron.2015.04.007

Elliott E., Atlas R., Lange A., Ginzburg I. Brain-derived neurotrophic factor induces a rapid dephosphorylation of tau protein through a PI-3Kinase signalling mechanism. *Eur. J. Neurosci.* 2005;22(5):1081-1089. DOI 10.1111/j.1460-9568.2005.04290.x

Gossye H., Van Mossevelde S., Sieben A., Bjerke M., Hendrickx Van de Craen E., van der Zee J., De Deyn P.P., De Bleecker J., Versijpt J., van den Ende J., Deryck O., Bourgeois P., Bier J.C., Goethals M., Vandenberghe R., Engelborghs S., Van Broeckhoven C. Patients carrying the mutation p.R406W in *MAPT* present with non-conforming phenotypic spectrum. *Brain*. 2023;146(4):1624-1636. DOI 10.1093/brain/awac362

Grimm D., Kay M.A., Kleinschmidt J.A. Helper virus-free, optically controllable, and two-plasmid-based production of adeno-associated virus vectors of serotypes 1 to 6. *Mol. Ther.* 2003;7(6):839-850. DOI 10.1016/s1525-0016(03)00095-9

Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Tung Y.C., Quinlan M., Wisniewski H.M., Binder L.I. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1986;83(13):4913-4917. DOI 10.1073/pnas.83.13.4913

Hock C., Heese K., Hulette C., Rosenberg C., Otten U. Region-specific neurotrophin imbalances in Alzheimer disease: decreased levels of brain-derived neurotrophic factor and increased levels of nerve growth factor in hippocampus and cortical areas. *Arch. Neurol.* 2000;57(6):846-851. DOI 10.1001/archneur.57.6.846

Huang G.B., Zhao T., Li C.R., Sui Z.Y., Kang N.I., Han E.H., Chung Y.C. Choline acetyltransferase expression in rat prefrontal cortex and hippocampus after acute and chronic exposure to amisulpride, haloperidol, and risperidone. *Neurosci. Lett.* 2012;528(2):131-136. DOI 10.1016/j.neulet.2012.09.024

Huey E.D., Putnam K.T., Grafman J. A systematic review of neurotransmitter deficits and treatments in frontotemporal dementia. *Neurology*. 2006;66(1):17-22. DOI 10.1212/01.wnl.0000191304.55196.4d

Hutton M., Lendon C.L., Rizzu P., Baker M., Froelich S., Houlden H., Pickering-Brown S., ... Oostra B.A., Hardy J., Goate A., van Swieten J., Mann D., Lynch T., Heutink P. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*. 1998;393(6686):702-705. DOI 10.1038/31508

Jahreis K., Brüge A., Borsdorf S., Müller F.E., Sun W., Jia S., Kang D.M., Boesen N., Shin S., Lim S., Koroleva A., Satala G., Bojarski A.J., Rakuša E., Fink A., Doblhammer-Reiter G., Kim Y.K., Dityatev A., Ponimaskin E., Labus J. Amisulpride as a potential disease-modifying drug in the treatment of tauopathies. *Alzheimers Dement.* 2023;19(12):5482-5497. DOI 10.1002/alz.13090

Jóźwiak-Bębenista M., Jasinska-Stroschein M., Kowalczyk E. The differential effects of neuroleptic drugs and PACAP on the expression of BDNF mRNA and protein in a human glioblastoma cell line. *Acta Neurobiol. Exp.* 2017;77(3):205-213

Khotskin N.V., Plyusnina A.V., Kulikova E.A., Bazhenova E.Y., Fursenko D.V., Sorokin I.E., Kolotygin I., Mormede P., Terenina E.E., Shevelev O.B., Kulikov A.V. On association of the lethal yellow (A^Y) mutation in the *agouti* gene with the alterations in mouse brain and behavior. *Behav. Brain Res.* 2019;359:446-456. DOI 10.1016/j.bbr.2018.11.013

Kobe F., Guseva D., Jensen T.P., Wirth A., Renner U., Hess D., Muller M., Medrihan L., Zhang W., Zhang M., Braun K., Westerholz S., Herzog A., Radyushkin K., El-Kordi A., Ehrenreich H., Richter D.W., Rusakov D.A., Ponimaskin E. 5-HT₇R/G₁₂ signaling regulates neuronal morphology and function in an age-dependen-

- dent manner. *J. Neurosci.* 2012;32(9):2915-2930. DOI 10.1523/JNEUROSCI.2765-11.2012
- Kondaurova E.M., Plyusnina A.V., Ilchibaeva T.V., Eremin D.V., Rodnyy A.Y., Grygoreva Y.D., Naumenko V.S. Effects of a *Cc2d1a/Freud-1* Knockdown in the hippocampus on behavior, the serotonin system, and BDNF. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(24):13319. DOI 10.3390/ijms222413319
- Kulikov A.V., Naumenko V.S., Voronova I.P., Tikhonova M.A., Popova N.K. Quantitative RT-PCR assay of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an external standard. *J. Neurosci. Methods.* 2005;141(1):97-101. DOI 10.1016/j.jneumeth.2004.06.005
- Kulikov A.V., Tikhonova M.A., Kulikov V.A. Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting. *J. Neurosci. Methods.* 2008;170(2):345-351. DOI 10.1016/j.jneumeth.2008.01.024
- Labus J., Röhrs K.F., Ackmann J., Varbanov H., Müller F.E., Jia S., Jahreis K., Vollbrecht A.L., Butzlaff M., Schill Y., Guseva D., Böhm K., Kaushik R., Bijata M., Marin P., Chaumont-Dubel S., Zeug A., Dityatev A., Ponimaskin E. Amelioration of Tau pathology and memory deficits by targeting 5-HT₇ receptor. *Prog. Neurobiol.* 2021;197:101900. DOI 10.1016/j.pneurobio.2020.101900
- Minaya M.A., Mahali S., Iyer A.K., Eteleeb A.M., Martinez R., Huang G., Budde J., Temple S., Nana A.L., Seeley W.W., Spina S., Grinberg L.T., Harari O., Karch C.M. Conserved gene signatures shared among *MAPT* mutations reveal defects in calcium signaling. *Front. Mol. Biosci.* 2023;10:1051494. DOI 10.3389/fmolb.2023.1051494
- Molobekova C.A., Kondaurova E.M., Ilchibaeva T.V., Rodnyy A.Y., Stefanova N.A., Kolosova N.G., Naumenko V.S. Amisulpride decreases tau protein hyperphosphorylation in the brain of OXYS rats. *Curr. Alzheimer Res.* 2023;20(7):496-505. DOI 10.2174/1567205020666230828144651
- Murley A.G., Rowe J.B. Neurotransmitter deficits from frontotemporal lobar degeneration. *Brain.* 2018;141(5):1263-1285. DOI 10.1093/brain/awx327
- Naumenko V.S., Osipova D.V., Kostina E.V., Kulikov A.V. Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain. *J. Neurosci. Methods.* 2008;170(2):197-203. DOI 10.1016/j.jneumeth.2008.01.008
- Park S.W., Seo M.K., Cho H.Y., Lee J.G., Lee B.J., Seol W., Kim Y.H. Differential effects of amisulpride and haloperidol on dopamine D₂ receptor-mediated signaling in SH-SY5Y cells. *Neuropharmacology.* 2011;61(4):761-769. DOI 10.1016/j.neuropharm.2011.05.022
- Perez M., Lim F., Arrasate M., Avila J. The FTDP-17-linked mutation R406W abolishes the interaction of phosphorylated tau with microtubules. *J. Neurochem.* 2000;74(6):2583-2589. DOI 10.1046/j.1471-4159.2000.0742583.x
- Pisani A., Paciello F., Del Vecchio V., Malesci R., De Corso E., Cantone E., Fetoni A.R. The role of BDNF as a biomarker in cognitive and sensory neurodegeneration. *J. Pers. Med.* 2023;13(4):652. DOI 10.3390/jpm13040652
- Popova N.K., Naumenko V.S. Neuronal and behavioral plasticity: the role of serotonin and BDNF systems tandem. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2019;23(3):227-239. DOI 10.1080/14728222.2019.1572747
- Renner U., Zeug A., Woehler A., Niebert M., Dityatev A., Dityateva G., Gorinski N., Guseva D., Abdel-Galil D., Frohlich M., Doring F., Wischmeyer E., Richter D.W., Neher E., Ponimaskin E.G. Heterodimerization of serotonin receptors 5-HT_{1A} and 5-HT₇ differentially regulates receptor signalling and trafficking. *J. Cell Sci.* 2012;125(Pt. 10):2486-2499. DOI 10.1242/jcs.101337
- Rizos E.N., Papadopoulou A., Laskos E., Michalopoulou P.G., Kastania A., Vasilopoulos D., Katsafouros K., Lykouras L. Reduced serum BDNF levels in patients with chronic schizophrenic disorder in relapse, who were treated with typical or atypical antipsychotics. *World J. Biol. Psychiatry.* 2010;11(2-2):251-255. DOI 10.3109/15622970802182733
- Rodnyy A.Y., Kondaurova E.M., Bazovkina D.V., Kulikova E.A., Ilchibaeva T.V., Kovetskaya A.I., Baraboshkina I.A., Bazhenova E.Y., Popova N.K., Naumenko V.S. Serotonin 5-HT₇ receptor overexpression in the raphe nuclei area produces antidepressive effect and affects brain serotonin system in male mice. *J. Neurosci. Res.* 2022;100(7):1506-1523. DOI 10.1002/jnr.25055
- Rovelet-Lecrux A., Lecourtis M., Thomas-Anterion C., Le Ber I., Brice A., Frebourg T., Hannequin D., Campion D. Partial deletion of the *MAPT* gene: a novel mechanism of FTDP-17. *Hum. Mutat.* 2009;30(4):E591-E602. DOI 10.1002/humu.20979
- Samarajeewa A., Goldemann L., Vasefi M.S., Ahmed N., Gondora N., Khanderia C., Mielke J.G., Beazely M.A. 5-HT₇ receptor activation promotes an increase in TrkB receptor expression and phosphorylation. *Front. Behav. Neurosci.* 2014;8:391. DOI 10.3389/fnbeh.2014.00391
- Shen L.L., Li W.W., Xu Y.L., Gao S.H., Xu M.Y., Bu X.L., Liu Y.H., Wang J., Zhu J., Zeng F., Yao X.Q., Gao C.Y., Xu Z.Q., Zhou X.F., Wang Y.J. Neurotrophin receptor p75 mediates amyloid β -induced tau pathology. *Neurobiol. Dis.* 2019;132:104567. DOI 10.1016/j.nbd.2019.104567
- Solas M., Van Dam D., Janssens J., Ocariz U., Vermeiren Y., De Deyn P.P., Ramirez M.J. 5-HT₇ receptors in Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* 2021;150:105185. DOI 10.1016/j.neuint.2021.105185
- Song J.H., Yu J.T., Tan L. Brain-derived neurotrophic factor in Alzheimer's disease: risk, mechanisms, and therapy. *Mol. Neurobiol.* 2015;52(3):1477-1493. DOI 10.1007/s12035-014-8958-4
- Stefanova N.A., Muraleva N.A., Korbolina E.E., Kiseleva E., Maksimova K.Y., Kolosova N.G. Amyloid accumulation is a late event in sporadic Alzheimer's disease-like pathology in nontransgenic rats. *Oncotarget.* 2015;6(3):1396-1413. DOI 10.18632/oncotarget.2751
- Strang K.H., Golde T.E., Giasson B.I. *MAPT* mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Lab. Invest.* 2019;99(7):912-928. DOI 10.1038/s41374-019-0197-x
- Xia Y., Sorrentino Z.A., Kim J.D., Strang K.H., Riffe C.J., Giasson B.I. Impaired tau-microtubule interactions are prevalent among pathogenic tau variants arising from missense mutations. *J. Biol. Chem.* 2019;294(48):18488-18503. DOI 10.1074/jbc.RA119.010178

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 09.02.2024. После доработки 26.03.2024. Принята к публикации 28.03.2024.