https://doi.org/10.17116/jnevro201811808191

Коррекция димебоном нарушений состава фосфолипидов в структурах мозга, вызванных фактором некроза опухоли α в эксперименте

А.В. АЛЕСЕНКО[1]*, С.О. БАЧУРИН[2], Ю.О. КАРАТАССО[1], А.А. КОРОТАЕВА[1], Е.Ф. ШЕВЦОВА[2], Л.Н. ШИНГАРОВА[3]

[1]ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН, Москва, Россия; [2]ФГБУН «Институт биологически активных веществ» РАН, Черноголовка, Россия; [3]ФГБУН «Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

Цель работы. Исследование способности нейропротектора димебона препятствовать нарушениям липидного метаболизма мозга, вызванным фактором некроза опухолей α (ФНО-α). **Материал и методы.** Изучали способность димебона (3,6-диметил-9-(2-метил-пиридил-5)-этил-1,2,3,4-тетрагидро-карболина дигидрохлорид), проявляющего нейропротективные свойства, препятствовать вызванным ФНО-α нарушениям липидного метаболизма мозга. В экспериментах использовали 65 мышей, самцов, весом 20±2 г. ФНО-α (10 мкг на животное), димебон (0,2 мг/кг) и их комбинацию вводили животным внутрибрюшинно. Изменения уровней суммарных фракций и молекулярных видов фосфолипидов (фосфатидилхолин, лизофосфатидилхолин, сфингомиелин и фосфатидилэтаноламин) в гиппокампе, коре и мозжечке изучали методом хромато-масс-спектрометрии через 30 мин, 2, 4 и 24 ч после инъекции. **Результаты и заключение.** После введения ФНО-α мышам в дозе 10 мкг происходило существенное изменение уровня всех исследованных фосфолипидов. Димебон в дозе 0,2 мг/кг самостоятельно не вызывал изменений содержания практически всех исследованных фосфолипидов, но при сочетанном введении с ФНО-α препятствовал нарушениям их содержания, которые индуцируются цитокином. Обнаружена избирательность действия ФНО-α и димебона на определенные молекулярные виды тех или иных фосфолипидов в различных отделах головного мозга мышей. Полученные данные свидетельствуют о защитных свойствах димебона, препятствующего развитию провоспалительного синдрома в мозге животных, индуцируемого ФНО-α.

Ключевые слова: *ФНО-α, димебон, фосфолипиды, мозг мышей, масс-спектрометрия.*

Dimebon correction of changes in phospholipid composition induced by tumor necrosis factor-alpha in experement

A.V. ALESSENKO, S.O. BACHURIN, YU.O. KARATASSO, A.A. KOROTAEVA, E.F. SHEVZOVA, L.N. SHINGAROVA

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; Institute of Physiologically Active Substances, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Russia; Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Objective. To investigate the ability of the neuroprotector dimebon to prevent alterations in brain lipid metabolism caused byTNF-α. **Material and methods.** The ability of dimebon (2,8-Dimethyl-5-[2-(6-methyl-3-pyridinyl)ethyl]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[4,3-b] indole hydrochloride) to prevent alterations in brain lipid metabolism caused byTNF-α was studied in 65 male mice (20+2g weight). TNF-α (10 mkg/mouse), dimebon (0.2 mg/kg) and their combination were injected intraperitoneally. Thirty min, 2, 4 and 24 h after injection, lipid level alterations in total fractions and molecular species of phospholipids (phosphatidylcholine, lysophosphatidylcholine, sphingomyelin and phosphatidylethanolamine) were measured with mass-spectrometry in the hippocampus, cortex and cerebellum. **Results and conclusion.** After injection of TNF-α into mice, there are significant changes in the level of all tested phospholipids. Dimebon at a dose of 0.2 mg/kg alone does not cause any changes in the content of all tested phospholipids, but injected together with TNF-α prevents cytokine induced alterations in the lipid content. The selectivity of TNF-α and dimebon influence on certain molecular species of various phospholipids in different parts of mouse brain is found. The presented data suggest protective properties of dimebon preventing the development of proinflammatory syndrome induced by TNF-α in the animal brain.

Keywords: *TNF-α, dimebon, phospholipids, mouse brain, mass-spectrometry.*

Влиянию фактора некроза опухоли α (ФНО-α) и других цитокинов в ЦНС отводят решающую роль как в нормальном развитии мозга, так и при патологических процессах [1—8]. ФНО-α является основным триггером воспалительных реакций и иммунного ответа в ЦНС [3], участвует в развитии таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера (БА) [6—8], рассеянный склероз, деменция при СПИДе и других инфекционных заболеваниях, церебраль-

© Коллектив авторов, 2018

*e-mail: ales@sky.chph.ras.ru

ная ишемия и инсульты различной этиологии, синдром Гийена—Барре и др. [9], а также их экспериментальных моделях [10].

Важным источником цитокинов в ЦНС являются периферические клетки крови, проникающие в мозг после какого-либо воздействия (начало воспалительного процесса, повреждение гематоэнцефалического барьера — ГЭБ и др.). Моноциты, активированные макрофаги и Т-клетки, инфильтрировавшие ЦНС, являются источником ФНО-α и других цитокинов и активно существуют в мозге достаточно долго: макрофаги могут составлять около 10% от общей глиальной популяции, активированные Т-клетки, специфически реагируя с системными антигенами ЦНС, остаются в мозге в течение нескольких дней. Эти клетки продуцируют цитокины — ФНО-α, интерлейкины (ИЛ-1 и ИЛ-6) [2], которые могут стимулировать глиальные клетки к экспрессии их собственных цитокинов [11].

Известно, что при проведении провоспалительного сигнала ФНО-α вызывает заметные нарушения в липидном метаболизме, приводящие к генерации вторичных посредников липидной природы и изменениям в липидном спектре клеточных мембран, вызванным окислительными процессами, которые активируются при действии ФНО-α [10, 12]. Нарушения липидного метаболизма сопровождают практически все патологии ЦНС, включая БА [10, 12].

В связи со значимостью ФНО-α при развитии патологий различного генеза и его ролью при БА представляет интерес изучение влияния нейропротекторов нового поколения на предупреждение токсического сигнала, индуцируемого ФНО-α в клетках мозга. В настоящее время предпринимаются усилия по созданию и поиску новых лекарственных средств, для которых ФНО-α может выступать в качестве мишени [13—15].

Среди препаратов, которые могут успешно использоваться для лечения нейродегенеративных заболеваний, в последнее время привлекает внимание димебон (3,6-диметил-9-(2-метил-пиридил-5)-этил-1,2,3,4-тетрагидро-карболина дигидрохлорид). Он был разработан и запатентован как антигистаминный препарат для лечения аллергических состояний учеными МГУ в начале 80-х годов XX века [16, 17]. Позже в Институте физиологически активных соединений РАН было установлено, что димебон проявляет положительно когнитивные свойства как на нейротоксикологических моделях деменции [18—20], так и в пилотных клинических испытаниях у больных БА [21, 22].

Цель нашей работы — исследование способности нейропротектора димебона препятствовать нарушениям липидного метаболизма мозга, вызванным ФНО-α.

Материал и методы

Рекомбинантный ФНО-α, синтезированный в Институте биоорганической химии РАН, и димебон вводили мышам линии C57bl (массой 20 г) внутрибрюшинно раздельно и в комбинации: ФНО-α в дозе 10 мкг на животное, димебон — 0,2 мг/кг массы животного с интервалами 30 мин, 2, 4 и 24 ч. В качестве контроля использовали животных, которым вводили физраствор в соответствующие сроки эксперимента. Было исследовано влияние димебона, ФНО-α и их комбинации (сочетанное введение) на изменение в молекулярных спектрах фосфолипидов (фосфатидилхолин — ФХ, лизофосфатидилхолин — ЛФХ, сфингомиелин — СМ и фосфатидилэтаноламин — ФЭА) в различных отделах головного мозга мышей (мозжечок, гиппокамп и кора).

Липиды из изолированных отделов мозга экстрагировали по методу Блайя—Дайера [23].

Метод хромато-масс-спектрометрии был использован для исследования фракций и молекулярных видов фосфолипидов структур мозга мышей. Выделенные липиды упаривали под током азота и растворяли в смеси хлороформ/метанол (2:1, v:v) в концентрации 6,8 мг/мл. Анализ липидов проводили высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ), масс-спектрометрией с использованием жидкостного хроматографа Surveyor («Thermo Electron», Германия), соединенного с масс-спектрометром Esquire 4000 («Bruker», Германия) с интерфейсом для ионизации электрораспылением. В качестве стандарта использовали молекулу ФЭА 16:0/16:0, отсутствующую в исходных липидных экстрактах.

Концентрацию всех исследуемых молекул определяли при помощи отношения величины площади под хроматографическим пиком для молекулы к аналогичному параметру стандарта. Такой метод не позволяет точно определить концентрацию каждого вещества, однако, если доказать, что изменение концентрации вещества вызывает пропорциональные изменения указанного отношения, то можно на основании полученных данных вычислить, во сколько раз она изменилась по сравнению с контрольным образцом. Для доказательства линейности зависимости указанного отношения от концентрации исследуемых веществ в условиях эксперимента ко всем образцам добавляли фиксированное количество стандарта и выбирали образцы, в которых указанное отношение площадей было наибольшим. После этого данные образцы разводили растворителем, содержащим такое же количество стандарта, так что концентрация исходных веществ составляла 10, 25, 50 и 75% от исходной. Затем снимали хроматограмму, и для каждого вещества вычисляли отношение площади под хроматографическим пиком для соответствующего иона к площади под пиком стандарта. Кроме того, снимали хроматограмму для чистого растворителя, в который добавляли только стандарт. Идентификацию молекулярных видов изученных фосфолипидов с различным содержанием жирных кислот проводили при помощи базы данных, содержащейся на сайте www.lipidmaps.org.

Для ВЭЖХ использовали нормальнофазную колонку Luna Silica (2), 2×150 мм размер частиц 3 мкм («Phenomenex»). В колонку вводили 2 мкл раствора липидов в хлороформе в исходной концентрации 6,8 мг/мл. Разделение смеси липидов проводили методом градиентного элюирования с использованием подвижных фаз А (97% ацетонитрил + 2% метанол + 1% уксусная кислота, раствор содержит 5 мМ ацетата аммония) и В (99% метанол + 1% уксусная кислота, раствор содержит 5 мМ ацетата аммония). Условия градиентного элюирования приведены в **табл. 1**. Скорость потока подвижных фаз составляла 100 мкл/мин.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерных программ Microsoft Excel и Origin Pro 6.1 методами вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при $p \leqslant 0{,}05$. На **рисунках** приведены среднеарифметические значения показателей, в качестве разброса экспериментальных данных указаны среднеквадратичные отклонения.

Основные результаты экспериментов представлены в **табл. 2**.

Результаты

Влияние ФНО-α и нейропротектора димебона на фосфолипидный спектр гиппокампа мозга мышей. Долгое время считалось, что ГЭБ непроницаем для таких крупных полипептидов, какими являются цитокины. Однако оказалось, что при некоторых патологических состояниях через ГЭБ могут проникать не только полипептиды, но даже целые клетки — макрофаги и лимфоциты. Для ФНО-α, как и для некоторых других цитокинов (ИЛ-1 и ИЛ-2), с помощью радиоактивной метки было показано, что они способны проникать через ГЭБ даже в норме [24]. Гиппокамп является наиболее уязвимой структурой мозга при развитии БА, поскольку именно в этой структуре формируются нарушения памяти при этом заболевании.

Обнаружено, что введение ФНО-α вызывает значительные изменения в содержании фосфолипидов гиппокампа **(табл. 2)**. Количество ФЭА увеличивается уже через 30 мин, 2 и 24 ч после введения цитокина и превышает контрольный уровень в течение 24 ч эксперимента **(см. табл. 2)**.

Таблица 1. **Градиентная программа для разделения липидов**

Время, мин	Фаза А, %	Фаза В, %
0	70	30
3	70	30
13	0	100
18	0	100
19	70	30
22	70	30

Введение только димебона не приводит к достоверному изменению уровня ФЭА практически на всем протяжении эксперимента по сравнению с контролем, но при сочетанном введении с ФНО-α димебон препятствует нарушениям содержания фосфолипида.

Для ЛФХ значимые отклонения от контрольного уровня после введения ФНО-α зарегистрированы в гиппокампе через 30 мин, 2 и 24 ч **(см. табл. 2)**. Димебон в этом случае достоверно снижает уровень ЛФХ через 30 мин и 24 ч, снимая токсическое действие цитокина.

ФНО-α повышает уровень ФХ только через 24 ч **(см. табл. 2)**. Димебон в отсутствие собственного эффекта в отношении ФХ препятствует его повышению, вызванному ФНО-α **(см. табл. 2)**.

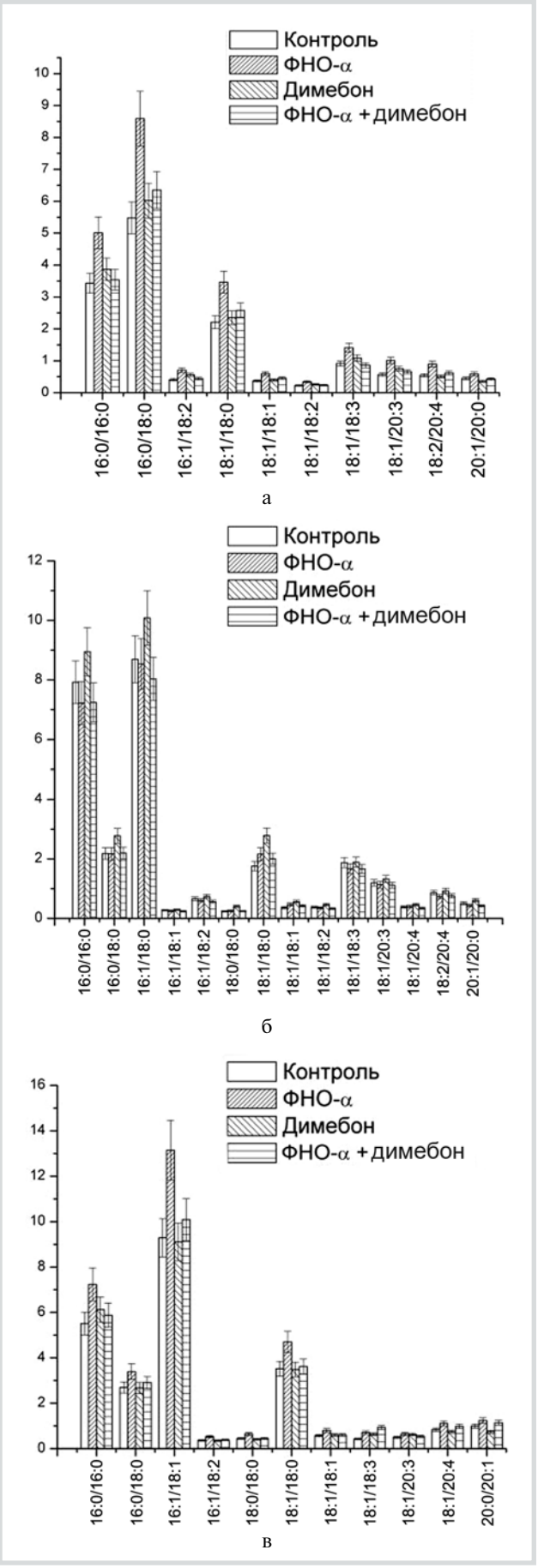
Уровень СМ в гиппокампе на всем исследованном интервале времени при ведении ФНО-α значительно превосходит контрольные значения, а введение только димебона практически не приводит к существенным отклонениям от контрольного уровня. Однако при сочетанном введении ФНО-α и димебона уровень СМ в гиппокампе возвращается к контрольным значениям **(см. табл. 2)**. Таким образом, димебон устраняет токсическое действие ФНО-α на спектр всех исследованных фосфолипидов гиппокампа.

Влияние ФНО-α и нейропротектора димебона на спектр фолипидов коры мозга мышей. В коре наиболее значимые изменения в содержании всех изученных фосфолипидов зафиксированы при действии ФНО-α через 24 ч **(см. табл. 2)**. Содержание ФЭА повышается в коре на всем исследованном интервале, в то время как уровень ФХ меняется незначительно по сравнению с контролем **(см. табл. 2)**. Уровень ЛФХ повышается через 4 и 24 ч после инъекции ФНО-α. СМ повышается на 24 ч после действия ФНО-α. Как видно из представленных в **табл. 2** данных, димебон, так же как и в гиппокампе, практически не влияет на содержание

Таблица 2. **Изменение содержания ФХ, ЛФХ, ФЭА и СМ в гиппокампе, коре и мозжечке после введения индукторов (ФНО-α, димебона и их комбинации)**

Время эксперимента	Серия опытов	Гиппокамп				Кора				Мозжечок			
		ФХ	ЛФХ	ФЭА	СМ	ФХ	ЛФХ	ФЭА	СМ	ФХ	ЛФХ	ФЭА	СМ
30 мин	Контроль	16,8	0,28	5,5	1,1	22,5	0,17	4,5	1,0	32,5	0,45	10,0	3,4
	ФНО-α	17,7	0,33	7,2*	1,6*	23,1	0,14	7,1*	1,2	34,1	0,55	11,5	3,6
	Димебон	15,9	0,24	5,8	1,4	22,0	0,15	4,4	1,1	25,1	0,51	2,1	3,4
	ФНО-α + димебон	13,2	0,19	4,8	0,9	23,1	0,21	5,2	1,2	29,8	0,53	8,4	3,5
2 ч	Контроль	14,1	0,31	4,5	0,9	23,1	0,17	7,0	0,2	29,8	0,51	10,1	3,4
	ФНО-α	15,2	0,26	5,8*	1,5*	28,0*	0,14	10,0*	1,3	36,1*	0,61	13,8*	4,2*
	Димебон	13,1	0,22	3,4	1,1	21,5	0,15	6,3	1,1	29,7	0,45	10,2	3,5
	ФНО-α + димебон	10,2	0,23	3,7	1,0	20,0	0,15	7,0	1,1	29,6	0,45	2,9	3,6
4 ч	Контроль	14,0	0,31	4,5	1,1	23,0	0,17	7,0	1,0	29,8	0,52	10,2	3,3
	ФНО-α	14,2	0,27	5,0	1,9*	25,5	0,25*	9,5*	1,2	37,1*	0,75*	15,4*	4,5*
	Димебон	15,8	0,31	5,5	1,1	22,5	0,20	6,5	1,0	30,0	0,60	2,8	3,5
	ФНО-α + димебон	18,5	0,30	6,4	1,2	20,0	0,20	6,0	0,9	32,5	0,47	2,7	3,5
24 ч	Контроль	14,0	0,31	4,5	0,9	26,0	0,20	7,8	0,9	30,0	0,55	2,7	3,5
	ФНО-α	22,8*	0,37	7,1*	1,6*	32,0*	0,27*	10,1*	1,4*	40,1*	0,85*	14,1*	4,5*
	Димебон	16,1	0,25	5,5	1,1	26,2	0,18	7,0	1,0	30,1	0,61	2,8	3,4
	ФНО-α +димебон	16,2	0,26	5,4	1,0	25,0	0,20	6,7	1,0	30,2	0,52	2,6	3,4

Примечание. Приведены отношения суммарной площади под хроматографическими пиками исследованных фосфолипидов к площади стандарта. * — достоверные различия по отношению к контролю ($p \leqslant 0,05$).



изученных липидов в коре и нормализует их уровень при сочетанном введении с ФНО-α.

Влияние ФНО-α и димебона на липидный спектр мозжечка мозга мышей. Способность димебона к нормализации уровня всех исследованных фосфолипидов сохраняется и в мозжечке **(см. табл. 2)**. Уровень ФЭА и СМ повышается через 2, 4 и 24 ч, ЛФХ — через 4 и 24 ч, ФХ — через 2, 4 и 24 ч после инъекции ФНО-α.

Димебон практически не влиял на уровень фосфолипидов в мозжечке, но при совместном действии с ФНО-α снимал влияние цитокина на изменение уровня фосфолипидов. Таким образом, закономерности в изменении содержания ФХ, ЛФХ, СМ, ФЭА в мозжечке при введении ФНО-α, димебона и их комбинации были аналогичны по характеру изменениям, наблюдаемым в гиппокампе и коре. Следовательно, основная тенденция для всех отделов мозга и всех фосфолипидов при введении димебона, ФНО-α и совместном их действии заключается в изменении уровня липидов по сравнению с контролем после введения ФНО-α, в то время как димебон нормализует изменения, вызванные ФНО-α, снижая уровень липидов до контрольного значения.

Влияние ФНО-α, димебона и их комбинации на молекулярный спектр фосфолипидов в структурах мозга мышей через 24 ч после введения препаратов. Различия молекулярных видов фосфолипидов определяются набором жирных кислот, входящих в их состав. Основным достоинством метода хромато-масс-спектрометрии является возможность детекции по молекулярным массам отдельных типов липидов, в том числе фосфолипидов. В наших экспериментах была показана избирательность действия ФНО-α и димебона на определенные молекулярные виды тех или иных липидов в различных отделах головного мозга мышей. На **рис. 1—3** отражены изменения уровня всех исследованных молекулярных видов липидов гиппокампа, коры и мозжечка через 24 ч после введения ФНО-α, димебона и сочетанного введения этих веществ. Из представленных результатов видна избирательность действия ФНО-α и димебона на различные молекулярные виды исследованных фосфолипидов.

В гиппокампе уровни ФХ с С16:0/16:0, 16:1/16:0 повышаются при введении ФНО-α **(см. рис. 1, а)**, а в коре цитокин не вызывает существенных изменений в спектре этого фосфолипида **(см. рис. 1, б)**, в мозжечке повышаются уровни ФХ с С16:1/16:1 **(см. рис. 1, в)**.

Наиболее значимые повышения содержания ФЭА с жирными кислотами С18:1/18:0, С18:0/20:0, С18:1/20:3 и С20:2/20:4 наблюдались в гиппокампе **(см. рис. 2, а)** и мозжечке **(см. рис. 2, в)**, в то время как в коре молекулярный спектр был достаточно стабилен **(см. рис. 2, б)**.

Уровень ЛФХ с С16:0 увеличивается только при действии ФНО-α как в гиппокампе, так и мозжечке **(см. рис. 3, а—в)**.

Уровень СМ с С18:0 увеличивается значительно в гиппокампе **(см. рис. 3, а)** и коре **(см. рис. 3, б)** при действии ФНО-α, а димебон практически не влияет на этот вид СМ, в мозжечке существенных изменений молекулярных видов СМ не отмечено **(рис. 3, в)**. Димебон, если и влияет на молекулярный спектр фосфолипидов, то не так выраженно,

Рис. 1. **Изменение содержания молекулярных видов ФХ через 24 ч после введения индукторов в гиппокампе (а), коре (б) и мозжечке (в).**

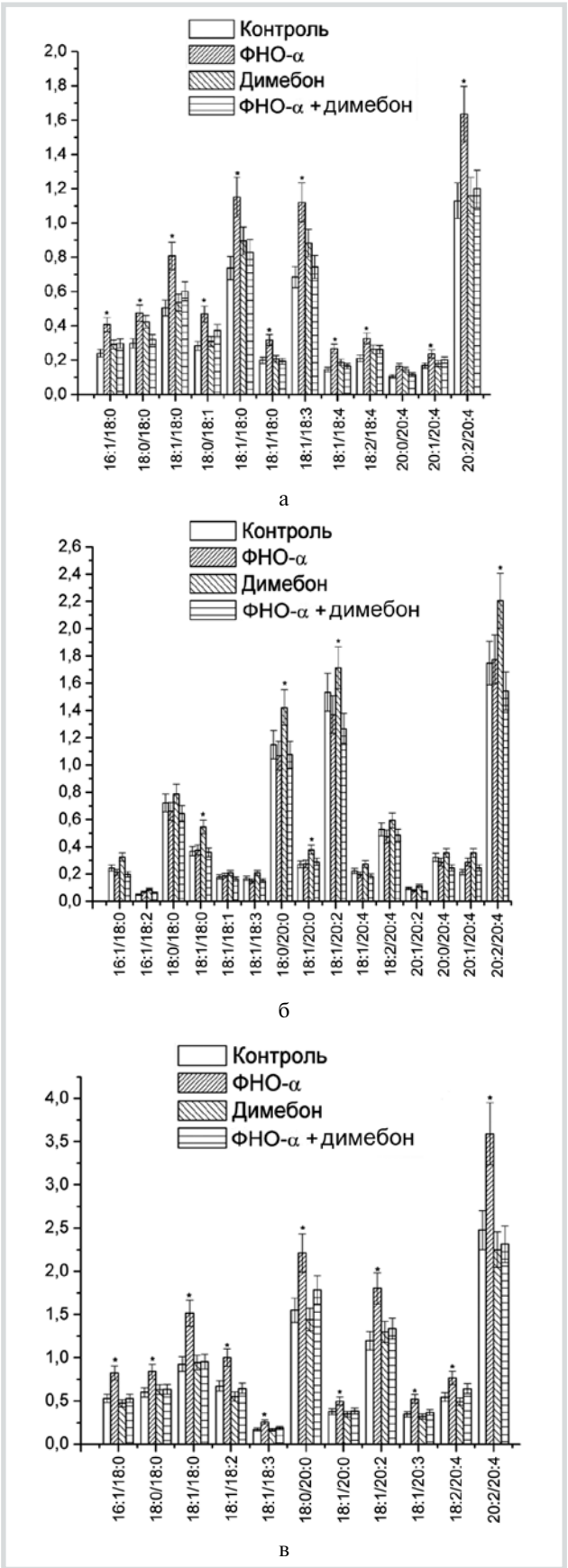


Рис. 2. **Изменение содержания молекулярных видов ФЭА через 24 ч после введения индукторов в гиппокампе (а), коре (б) и мозжечке (в).**

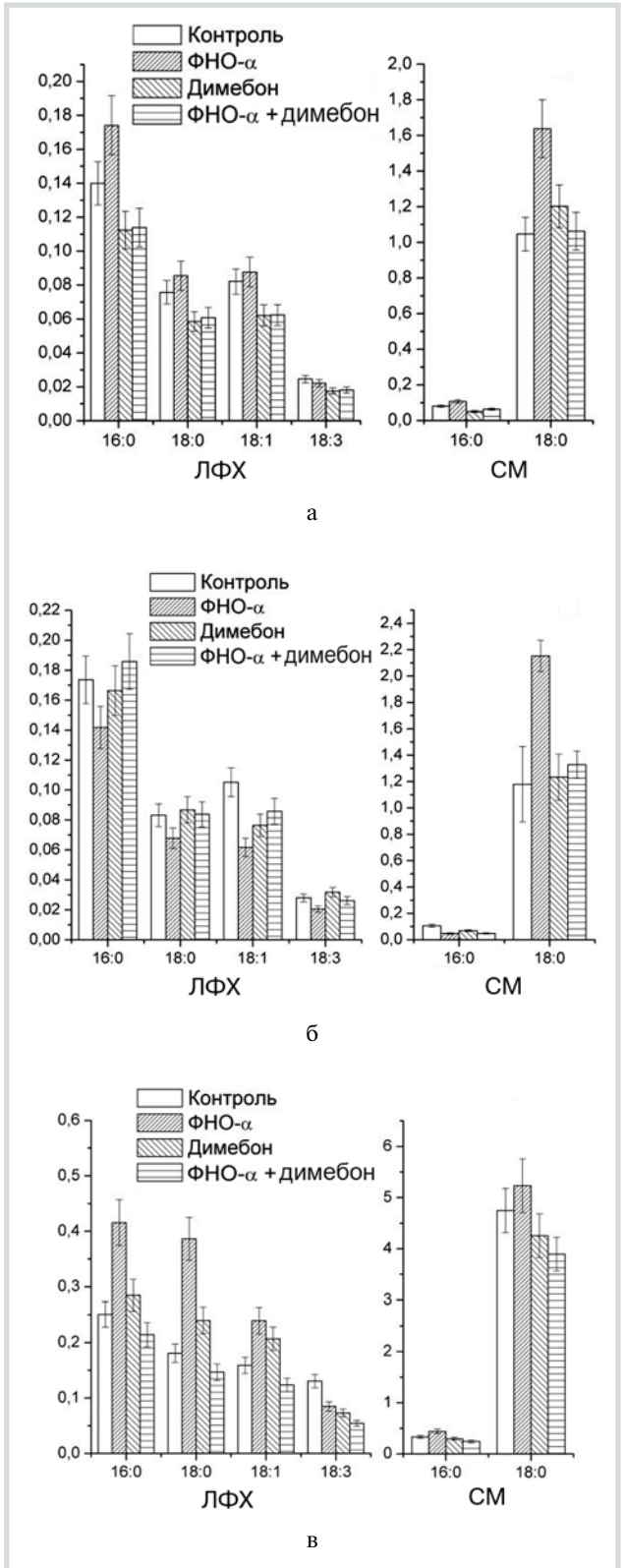


Рис. 3. **Изменение содержания молекулярных видов СМ и ЛФХ через 24 ч после введения индукторов в гиппокампе (а), коре (б) и мозжечке (в).**

как ФНО-α, что соответствует данным, полученным для суммарной фракции каждого липида. Сочетанное введение ФНО-α и димебона приводит либо к снижению, либо

нормализации всех молекулярных видов фосфолипидов **(см. рис. 3)**.

Обсуждение

Наши эксперименты продемонстрировали, что после введения ФНО-α происходит существенное изменение уровня всех исследованных суммарных фракций фосфолипидов в гиппокампе, коре и мозжечке. Димебон самостоятельно не вызывал изменений содержания практически всех исследованных фосфолипидов, но при сочетанном введении с ФНО-α препятствовал нарушениям их содержания, индуцируемым цитокином. Обнаружена избирательность действия ФНО-α и димебона на определенные молекулярные виды тех или иных липидов в различных отделах головного мозга мышей. Следует подчеркнуть, что димебон проявлял свое действие по отношению практически ко всем молекулярным видам фосфолипидов во всех изученных структурах мозга животных, хотя суммарный баланс каждой фракции менялся незначительно.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют, что нейропротектор димебон обладает способностью к коррекции изменений в липидном составе различных отделов головного мозга, вызванных токсическим действием ФНО-α, при этом введение димебона животным не оказывает существенного влияния на липидный спектр в течение 24 ч. В гиппокампе при введении ФНО-α наиболее выражены изменения СМ. Возможно, увеличение концентрации СМ в этом отделе мозга связано с накоплением проапоптотического агента церамида, являющегося продуктом гидролиза СМ сфингомиелиназой. Повышение активности фермента сфингомиелиназы при введении ФНО-α зафиксировано нами ранее [25, 26]. Наиболее явно способность димебона к ослаблению действия ФНО-α видна во всех отделах мозга через 24 ч после введения индукторов. Возможно, важной мишенью для димебона являются ФНО-α или его рецепторы. Эту вероятность подчеркивают наши эксперименты, проведенные ранее [27] при исследовании влияния димебона на цитотоксическое действие ФНО-α с использованием культуры клеток мышиных фибробластов L929. Предварительная обработка клеток димебоном препятствует токсическому действию цитокина. Вероятно, димебон препятствует взаимодействию ФНО-α с его рецепторами, не позволяя развиться токсическому сигналу. Полученные нами факты значительно расширяют представления о механизме действия этого нейропротективного препарата за счет его способности препятствовать нарушению проведения токсического сигнала от ФНО-α, что является одной из причин нейродегенеративных заболеваний, включая БА.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tarkowski E. Cytokines in dementias. *Curr Drug Targets Inflamm, Allergy.* 2002;1(2):193-200. https://doi.org/10.2174/1568010023344670
2. Montgomery SL, Bowers WJ. Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2012;7(1):42-59. https://doi.org/10.1007/s11481-011-9287-2
3. Arvin B, Neville LF, Barone FC, Feuerstein GZ. The role of inflammation and cytokines in brain injury. *Neurosci Biobehav Rev.* 1996;20(3):445-452. https://doi.org/10.1016/0149-7634(95)00026-7
4. Clark IA, Alleva LM, Vissel B. The roles of TNF in brain dysfunction and disease. *Pharmacol Ther.* 2010;128:519-548. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.08.007
5. Hoffmann O, Zipp F, Weber JR. Tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in central nervous system inflammation. *J Mol Med (Berl).* 2009;87(3):753-763. https://doi.org/10.1007/s00109-009-0484-x
6. Rubio-Perez JM, Morillas-Ruiz JM. Inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *Scientific World Journal.* 2012;ID756357:1-15. https://doi.org/10.1100/2012/756357
7. Perry RT, Collins JS, Wiener H, Acton R, Go RC. The role of TNF and its receptors in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2001;22(6):873-883. https://doi.org/10.1100/2012/756357
8. McAlpine FE, Tansey MG. Neuroinflammation and tumor necrosis factor signaling in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *J Inflamm Res.* 2008;1:29-39. https://doi.org/10.1100/2012/756357
9. Scott KR, Barrett AM. Dementia syndromes; Evalution and treatment. *Expert Rev Neurother.* 2007;7(4):407-422. https://doi.org/10.1586/14737175.7.4.407
10. Rozhnova UA, Alessenko AV. TNF-alpha induced changes in shingomyelin cycle and cholesterol level in rat brain. *Europian Cytokine Network.* 1998;9(3):458-459.
11. Engelhardt B. Molecular mechanisms involved in T cell migration across the blood-brain barrier. *J Neural Transm.* 2006;113(4):477-485. https://doi.org/10.1007/s00702-005-0409-y
12. Adibhatla RM, Hatcher JF. Altered lipid metabolism in brain injury and disorders. *Subcell Biochem.* 2008;49:241-268. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8831-5_9
13. Tweedie D, Sambamurti K, Greig NH. TNF-alpha inhibition as a treatment strategy for neurodegenerative disorders: new drug candidates and targets. *Curr Alzheimer Res.* 2007;4(4):378-385. https://doi.org/10.2174/156720507781788873
14. Tobinick E. Tumour necrosis factor modulation for treatment of Alzheimer's disease: rationale and current evidence. *CNS Drugs.* 2009;23(9):713-725. https://doi.org/10.2165/11310810-000000000-00000
15. Frankola KA, Greig NH, Luo W, Tweedie D. Targeting TNF-α to elucidate and ameliorate neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2011;10(3):391-403. https://doi.org/10.2174/187152711794653751
16. Матвеева И.Ф. Влияние димебона на гистаминовые рецепторы. *Фармакол токсикол.* 1983;46(4):27-29. [Matveeva IA. Action of dimebon on histamine receptors. *Farmakol Toksikol*. 1983;46(4):27-29. (In Russ.)].
17. Bachurin S, Bukatina E, Lermontova N, Tkachenko S, Afanasiev A, Grigoriev V, Grigorieva I, Ivanov Y, Sablin S, Zefirov N. Antihistamine agent Dimebon as a novel neuroprotector and a cognition enhancer. *Ann NY Acad Sci.* 2001;939:425-435. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03654.x
18. Григорьев В.В., Гарибова Т.Л., Воронина Т.А., Литвинова С.А., Бачурин С.О. Эффект хронического введения димебона на поведение и память мышей SAMP 10. *Экспер клин фармакол.* 2009;72(1):52-56. [Grigor'ev VV, Garibova TL, Voronina TA, Litvinova SA, Bachurin SO. Effects of chronic administration of dimebon on behavior and memory of SAMP 10 mice. *Eksp Klin Farmakol*. 2009;72(1):52-56. (In Russ.)]. https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.02.170
19. Устюгов А.А., Шелковникова Т.А., Кохан В.С., Хританкова И.В., Петерс О., Бухман В.Л., Бачурин С.О., Никина Н.Н. Димебон снижает содержание агрегированных форм амилоидогенного белка в детергент-нерастворимых фракциях *in vivo*. *Бюлл экспер биол и мед*. 2011;152(6):675-678. [Ustyugov AA, Shelkovnikova TA, Kokhan VS, Khritankova IV, Peters O, Buchman VL, Bachurin SO, Ninkina NN. Dimebon reduces the levels of aggregated amyloidogenic protein forms in detergent-

insoluble fractions *in vivo*. *Bull Exp Biol Med*. 2012;152(6):731-733. (In Russ.)]. https://doi.org/10.1007/s10517-012-1618-7

20. Лермонтова Н.Н., Лукьянов Н.В., Серкова Т.П.. Лукьянова Е.А., Бачурин С.О. Димебон ускоряет обучение животных с экспериментальной моделью болезни Альцгеймера. *Бюлл экспер биол и мед*. 2002; 129(6):544-546. [Lermontova NN, Lukoyanov NV, Serkova TP, Lukoyanova EA, Bachurin SO. Dimebon improves learning in animals with experimental Alzheimer's disease. *Bull Exp Biol* Med. 2002;129(6):544-546. (In Russ.)]. https://doi.org/10.1007/BF02434871
21. Doody RS, Gavrilova SI, Sano M, Thomas RG, Aisen PS, Bachurin SO, Seely L, Hung D. Dimebon investigators. Effect of dimebon on cognition, activities of daily living, behaviour, and global function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet*. 2008;19(372):207-215. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61074-0
22. Steele JW, Gandy S. Latrepirdine (Dimebon, a potential Alzheimer therapeutic, regulates autophagy and neuropathology in an Alzheimer mouse mode. *Autophagy*. 2013;9(4):617-618. https://doi.org/10.4161/auto.23487
23. Bligh TG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*. 1959;37(8):911-917.
24. Osburg B, Domling D, Schomburg L, Ko YT, Voigt K, Bickel U. Effect of endotoxin on expression of TNF receptors and transport of TNF-alpha at the blood-brain barrier of the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283(5):899-908. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00436.2001
25. Alessenko AV, Bugrova AE, Dudnik LB. Connection of lipid peroxide oxidation with sphingomyelin cycle pathway in the development of Alzheimer's disease. *Biochem Soc Transaction*. 2004;32(1):144-146. https://doi.org/10.1042/bst0320144
26. Alessenko AV. Role of sphingomyelin cycle signaling system in Alzheimer's disease. In book: *New Research on Alzheimer's Disease*. NOVA Science, USA; 2006;168-189.
27. Alessenko AV, Bachurin SO, Gurianova SV, Karatasso Ju, Shevzova EF, Shingarova LN. Tumor necrosis factor-alpha — potential target for neuroprotector dimebon. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B: Biomedical Chemistry*. 2015;9(2):188-197. https://doi.org/10.1134/s199075081502002x