

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця

НАН України

академік ФРНЦІТАЛЬ О.О.



АНОТОВАНИЙ ЗВІТ

про виконану роботу у 2020 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок

**«Інтервальна гіпоксія як нова стратегія лікування та профілактики
хвороби Альцгеймера: молекулярні механізми та терапевтична реалізація»**

Назва конкурсу: «Підтримка досліджень провідних та молодих учених»

Реєстраційний номер Проєкту: № 2020.02/0070

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) № 2020.02/0070 «Інтервальна гіпоксія як нова стратегія лікування та профілактики хвороби Альцгеймера: молекулярні механізми та терапевтична реалізація».

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» (назва конкурсу) протокол від «_16-17» «09»_ 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту

Початок 29.10.2020__дата укладання Договору про виконання наукових досліджень і розробок;
Закінчення – 2022 рік.

Загальна вартість Проєкту, грн. 9 410000 грн (дев'ять мільйонів чотириста десять тисяч грн)

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 1 500000 грн__один мільйон п'ятсот тисяч грн__

2-й рік 4 666000 грн__чотири мільйони шістьсот шістьдесят шість тисяч грн

3-й рік 3 244000 грн__три мільйони двісті сорок чотири тисячі грн

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 7 виконавців, з них:

доктори наук 1_____;

кандидати наук 1_____;

інші працівники 5_____.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(І) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України є всесвітньо відомим науково-дослідним центром в галузі молекулярної фізіології, біофізики, нейрофізіології, патологічної фізіології. Науковий керівник проєкту- Тетяна Серебровська, професор з фізіології (2010 р.), ступінь магістра наук з відзнакою першого класу (1972 р.), кандидат біологічних наук зі

спеціальності фізіологія людини і тварин (1978 р.), доктор біологічних наук в галузі фізіології (1989), дійсний член-академік Міжнародної академії наук (1997), володар медалі Міжнародної асоціації вчених «За чесність і безкорисливість в науці», працює провідним науковим співробітником Інституту фізіології імені Богомольця НАНУ, відділ гіпоксії. Індекс Гірша (SCOPUS) - 12, досвід дослідження - 45 років; загальна кількість публікацій - 350..

До виконання проекту залучений ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», який є ведучою науковою установою України у дослідженні процесів старіння та вік залежної патології, якою є хвороба Альцгеймера. Інститут геронтології багато років займається вивченням проблем пов'язаних із хворобою Альцгеймера і має для цього необхідну матеріально-технічну базу.

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків): довести гіпотезу, що гіпоксичне тренування забезпечує активацію аутофагії, ослаблення запалення мозку та поліпшення когнітивних функцій; а циркулюючі плазмалогени і протизапальні цитокіни можуть служити периферичними маркерами ефективності лікування хвороби Альцгеймера (ХА).

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

Винайти доступні маркери для ранньої діагностики хвороби Альцгеймера (ХА) та оцінки ефективності інтервальних гіпоксичних тренувань (ІГГТ) при лікуванні/попередженні захворювання. Для цього відпрацювати стрептозотоцинову модель ХА на щурах, оцінити їх когнітивні функції, вивчити в якості маркерів рівень Ab та ізоформ APP, експресію м РНК та HIF, маркерів запалення та аутофагії, рівень DAO, mit DAMPs та формування NETs в крові щурів та осіб з ХА при ІГГТ.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- **Сучасний стан проблеми** (до 400 знаків)

Хвороба Альцгеймера - це комплекс психічних розладів, що пов'язані з накопиченням бета амілоїду (A β) у мозку. Діагностичне визначення амілоїду в мозку людини неможливе. Виникає потреба винайти доступні маркери для ранньої діагностики хвороби. У нашому попередньому дослідженні ми продемонстрували позитивний вплив інтервальної гіпоксії на когнітивні функції пацієнтів та показали зв'язок з рівнем A β , APP, позаклітинних нейтрофільних пасток в їх крові.

- **Новизна Проєкту** (до 400 знаків)

Новизна підходу полягає в тому, що на основі експериментальних досліджень молекулярних механізмів HIFзалежних впливів інтервальної гіпоксії на каскад бета-амілоїду, ролі аутофагії, зокрема мітофагії та пексофагії, утворення NETs та запальних цитокінів будуть обрані найбільш інформативні та зручні в клінічному застосуванні маркери для оцінки ефективності ІГГТ і використання цих маркерів для коригування режиму ІГГТ під час лікування.

- **Методологія дослідження** (до 400 знаків)

Проводяться два види дослідження: на тваринах та людях. Для створення моделі ХА на щурах використовуються внутрішньошлуночкові ін'єкції стрептозотоцину, досліджуються когнітивні функції, рівень амілоїду бета та ізоформ APP в гіпокампі та периферичній крові, маркерів запалення та аутофагії при дії ІГГТ. У здорових людей похилого віку та пацієнтів з помірними когнітивними порушеннями вивчаються ті ж показники тільки в периферичній крові при дії ІГГТ.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

Налагоджено методику внутрішньошлуночкової ін'єкції стрептозотоцину для моделювання хвороби Альцгеймера (ХА) у щурів. 19 щурів лінії Вістар, самців віком 12 тижнів та вагою 240-340 г були прооперовані та поділені на дві групи: 1) контрольна група з ін'єкцією фізіологічного розчину, 2) група з ін'єкцією розчину стрептозотоцину (STZ). Проведення поведінкових тестів у таких щурів підтвердило погіршення просторової пам'яті та навчання, зниження рівня дослідницької активності та емоційно-зумовленої пам'яті у реакції на оточення. Зокрема, при виконанні водного тесту Морріса тварини групи STZ в середньому значно довше знаходили платформу у перший та другий день відносно контрольної групи. При виконанні тесту «Відкрите поле» спостерігається тенденція до збільшення загально пройденої дистанції у тварин групи STZ. **Тест на дослідження зумовленого страху також показав** у тварин групи STZ зменшення реакції на оточення після отримання негативного досвіду ($p = 0,047$) Результати вказують на відповідність даної моделі ХА поставленим у дослідженні цілям.

Зібрано та оброблено матеріал для подальшої оцінки змін вмісту амілоїду бета, маркерів запалення та аутофагії в тканинах гіпокампа. Проведено морфологічне оцінювання структурної архітекτονіки гіпокампу, рівня пошкодження нейронів пірамідального шару при введенні стрептозотоцину. Проведено гістологічне вивчення гіпокампу тварин контрольної групи після інтравентрикулярної ін'єкції фізіологічного розчину. Показано збереженість структурної архітекτονіки тканин, базальних рівнів аутофагії, відсутність некротичних або апоптотичних процесів. Проведено аналіз активації утворення спонтанних позаклітинних нейтрофільних пасток (ПНП), які є факторами форсування ХА. Показано суттєве збільшення інтенсивності утворення спонтанних ПНП у експериментальних тварин, що свідчить про наявність вираженого запального процесу. Налагоджено методику удаваного та реального гіпоксичного тренування щурів у камері із проточною системою газопостачання. На основі процедури відбору та подальшого неврологічного та нейропсихологічного дослідження сформована контрольна група людей старшого віку без ознак помірного та важкого когнітивного дефіциту. Учасники склались із 7 здорових осіб без ознак синдрому когнітивних порушень (група здорового контролю). Відсутність або наявність когнітивних порушень була встановлена згідно з переглянутими критеріями Петерсена. Рівень когнітивних функцій оцінювалось за допомогою тесту Монреальської когнітивної оцінки (MoCA) Середньо груповий бал згідно шкали МОКА склав $27,5 \pm 1,8$ балів.

Проведено оцінювання експресії амілоїду бета та білку-попередника амілоїду (APP), маркерів запалення та мітохондріальної дисфункції в плазмі крові здорових осіб. Флуоресцентна мікроскопія ізольованих нейтрофільних позаклітинних пасток здорових людей похилого віку підтвердила можливість використання цієї групи для подальшого порівняння з групою пацієнтів з ХА.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Лікування когнітивних порушень потребує нових мульти- та міждисциплінарних підходів, тим більше, що пандемія хвороби Альцгеймера здається невідступною при наявних 11 заходах. Сучасні методи лікування захворювання включають переважно фармакологічні втручання, спрямовані не на усунення основних причин захворювання, а на полегшення симптомів. Завданням проекту є розробка унікальної, безпечної та економічно вигідної стратегії на основі нової технології гіпоксичного тренування, яка дозволяє діяти природним чином на патогенетичні механізми розвитку ХА. Сформована стратегія зниження бета-амілоїду сприятливо вплине на пацієнтів із помірними когнітивними порушеннями. Надалі пошук інформативних маркерів ризику дозволить визначити індивідуальний поріг, що відокремлює конструктивний вплив гіпоксії від руйнівного, та встановити індивідуалізовані режими тренування.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

На основі таких досліджень будуть розроблені спеціальні медичні протоколи для широкого використання методу для профілактики та лікування неврологічних захворювань. З подальшим розвитком ідеї проєкту будуть створені наукові центри у різних містах для поширення нових знань серед лікарів та пацієнтів про немедикаментозні природні шляхи покращення здоров'я населення. Доцільно створити нову форму мережі клінік, що співпрацюватимуть для подальшого збору клінічних даних та створення спільної бази даних, щоб вдосконалити метод ІГТ та поширити його на лікування та попередження інших форм неврологічних розладів. Це сприятиме створенню більш досконалих, дешевих, конкурентоспроможних пристроїв для ІНТ. Надалі продаж цих пристроїв забезпечить дохід фундаментальним фондам досліджень.

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту

д-р біологічних наук, професор

(посада)

Середювська М.В.

ПІБ

(підпис)

М.В. Сердюк