

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Директор Інституту біохімії  
ім. О.В. Палладіна НАН України

Сергій КОМІСАРЕНКО



**АНОТОВАНИЙ ЗВІТ**  
про виконану роботу у 2021 році в рамках реалізації проєкту  
із виконання наукових досліджень і розробок

**Нейропротекторна дія вітаміну D<sub>3</sub> за глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності**

Назва конкурсу: Підтримка досліджень провідних та молодих учених  
Реєстраційний номер Проєкту: 2020.02/0336

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.02/0336  
«Нейропротекторна дія вітаміну D<sub>3</sub> за глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу Підтримка досліджень провідних та молодих учених протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21.

**1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ**

Загальна тривалість виконання проєкту 2020 рік – 2022 рік  
Тривалість виконання Проєкту у 2021 році  
Початок – 30.04.2021 р.  
Закінчення – 15.12.2021 р.

Загальна вартість Проєкту, грн. 3428950 грн.

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 738500 грн.  
2-й рік 1 334 700 грн.  
3-й рік 1 355 750 грн.

**2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ**

до виконання Проєкту залучено 6 виконавців, з них:

доктори наук 1;  
кандидати наук 5;  
інші працівники \_\_\_\_\_.

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

Грантоотримувач Проєкту:

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна 01054, м. Київ, вул. Леонтовича, 9; тел. (044) 234-63-14;  
факс 279-63-65  
Код ЄДРПОУ 05417288  
Код(и) КВЕД М-72.1  
Відомча підпорядкованість – Національна академія наук України

Організація субвиконавця Проєкту:

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця 01024, м. Київ, вул. Богомольця, 4; тел. (044) 253-20-13  
Код ЄДРПОУ 05417093  
Код(и) КВЕД 72.2, 72.11, 72.19, 85.42  
Відомча підпорядкованість – Національна академія наук України

#### 4. ОПИС ПРОЄКТУ

**4.1. Мета Проєкту:** З'ясувати участь NF-κB-асоційованих сигнальних шляхів у розвитку глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності у взаємозв'язку із D-вітамінним статусом і станом D-ауто/паракринної системи у мозку щурів.

**4.2. Основні завдання Проєкту:**

1. Охарактеризувати стан D-ауто/паракринної системи, морфофункціональні та когнітивно-поведінкові порушення, зміни прооксидантних, прозапальних, проліферативних процесів та загибелі нервових клітин за дії преднізолону та вітаміну D<sub>3</sub>;
2. Дослідити роль ядерного фактору NF-κB та шляху RANKL-RANK у розвитку глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності та у механізмі нейропротекторної дії вітаміну D<sub>3</sub>.

**4.3. Детальний зміст Проєкту:**

- Сучасний стан проблеми

Тривале застосування глюкокортикоїдів (ГК) підвищує ризик розвитку порушень у ЦНС. Вітамін D<sub>3</sub> проявляє нейропротекторну дію за різних нервових порушень. Актуальним є встановлення залежності між D-вітамінним статусом, змінами NF-κB-асоційованих сигнальних шляхів та індукцією загибелі клітин і морфофункціональними порушеннями у головному мозку за ГК-індукованої нейротоксичності.

- Новизна Проєкту

Ефективність застосування вітаміну D<sub>3</sub> для корекції і профілактики морфофункціональних і когнітивно-поведінкових порушень за нейротоксичного впливу ГК буде вперше експериментально обґрунтована встановленням зв'язку цих змін з рівнем забезпеченості організму вітаміном D, станом вітамін D-ауто/паракринної системи та сигнальними шляхами NF-κB у головному мозку.

- Методологія дослідження

Для дослідження будуть використані сироватка крові, спинномозкова рідина, головний мозок тварин та його структури. Для реалізації основних завдань роботи будуть використані наступні методи дослідження: гістологічні, імунохімічні, функціонально-біохімічні методи, конфокальна мікроскопія, поведінкові тести, методи молекулярної біології та статистичного аналізу.

**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)**

Показано, що тривале введення преднізолону призводило до розвитку помірної когнітивно-поведінкової дисфункції у щурів. За даними тесту вимушеного плавання показано

збільшення часу перебування тварин у нерухомому стані та пригнічення їх активної поведінки, що свідчить про депресивно-подібні зміни. Вітамін D<sub>3</sub> виявляв антидепресантну активність, зменшуючи час іммобілізації та стимулюючи активну поведінку щурів. На клітинно-молекулярному рівні встановлено зростання вмісту нітрованих протеїнів без істотних змін рівня їх карбонілювання, а також виявлено підвищення інтенсивності полі-ADP-рибозилування протеїнів, що вказує на розвиток оксидативно-нітрозативного/генотоксичного стресу за дії преднізолону. Введення вітаміну D<sub>3</sub> частково коригувало виявлені порушення окисного метаболізму. Вивчення експресії маркерів запалення показало підвищення вмісту TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , iNOS, TGF- $\beta$  та загального VEGF без зміни рівня мієлопероксидази. Отримані дані вказують на наявність низькоградієнтного запального процесу у нервовій тканині за GK-індукованої нейротоксичності. Продемонстровано здатність вітаміну D<sub>3</sub> модулювати рівень експресії маркерів запалення.

Продемонстровано, що оксидативно-нітрозативний стрес та розвиток низько градієнтного запалення супроводжується зростанням рівня експресії субодиниці p65 ядерного фактору  $\kappa$ B та посилення її специфічного фосфорилування за різними залишками амінокислот, що вказує на можливість залучення канонічного сигнального шляху NF- $\kappa$ B у механізмі GK-індукованої нейротоксичності. Однак, було виявлено, що вміст протеїну інгібітору  $\kappa$ B (I $\kappa$ B- $\alpha$ ) знижувався за дії преднізолону. Визначення молекулярних маркерів апоптозу та гістохімічне виявлення апоптичних змін за допомогою методу TUNEL дозволило встановити глюкокортикоїд-індуковане посилення процесу запрограмованої загибелі клітин у головному мозку щурів та встановити, що апоптичний процес переважно реалізується за мітохондріальним (внутрішнім) механізмом. При цьому було виявлено достовірне зменшення кількості NG2+ клітин (нейроцитів) у гіпокампі. Посилена загибель клітин за GK-індукованої нейротоксичності супроводжувалась гальмуванням процесу клітинного проліферування у різних структурних ділянках головного мозку, головним чином за рахунок мікроглії. Виявлено підвищення кількості астрогліальних клітин у різних ділянках головного мозку щурів. Терапевтичне введення вітаміну D<sub>3</sub> частково коригувало викликані довготривалою дією преднізолону зміни у головному мозку щурів, що вказує на можливість VDR-опосередкованого модулювання NF- $\kappa$ B-асоційованих процесів в механізмі антиапоптичної, антипроліферативної та нейропротекторної дії вітаміну D<sub>3</sub>.

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

Отримані у ході виконання проекту дані є новими та вперше демонструють, що індуковані тривалим введенням глюкокортикоїдного препарату преднізолону структурно-функціональні зміни у тканині головного мозку та когнітивно-поведінкова дисфункція можуть обумовлюватись інтенсифікацією оксидативно-нітрозативного стресу та розвитком запальної відповіді, опосередкованої активуванням канонічного шляху NF- $\kappa$ B, що на клітинному рівні призводить до порушення балансу апоптичних та проліферативних процесів в бік посилення запрограмованої загибелі клітин. У даному дослідженні було підтверджено важливість нормалізації біодоступності вітаміну D<sub>3</sub> для забезпечення нормального функціонування нервових клітин за умов навантаження організму тварин глюкокортикоїдним препаратом преднізолоном. Той факт, що істотна нормалізація біодоступності вітаміну D призводила також і до часткової корекції індукованих GK порушень окисного метаболізму, прооксидантних і прозапальних процесів у нервовій тканині, доводить суттєву роль D-дефіциту та дерегулювання вітамін D-авто-/паракринної системи в патогенезі GK-індукованої нейротоксичності.

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

Отримані наукові результати реалізації проекту у 2021 році є теоретичною основою для подальшого з'ясування молекулярно-клітинних механізмів нейропротекторної дії вітаміну D<sub>3</sub> на

наступних етапах виконання проекту, що сприятиме у кінцевому рахунку вирішенню актуальної біомедичної та соціальної проблеми з експериментального обґрунтування можливості терапевтичного застосування вітаміну D<sub>3</sub> як ефективного засобу корекції глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності.

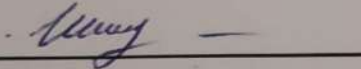
#### **5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проекту в суспільній практиці.**

В результаті виконання проекту у 2021 році отримані проміжні дані, які на наступному етапі виконання проекту будуть доповнені та на їх основі буде розроблено фармакологічні підходи направлено регулювання функціональної активності клітин головного мозку за глюкокортикоїд-індукованої нейротоксичності з використанням вітаміну D<sub>3</sub>, що можуть бути застосовані у комплексному лікуванні неврологічних та когнітивних порушень, асоційованих з тривалим введенням глюкокортикоїдів.

#### **Науковий керівник Проекту**

Старший науковий співробітник, к.б.н.

Ігор ШИМАНСЬКИЙ



(підпис)