

УДК 611.018.82; 616.894-053.8; 582.998.2

DOI:10.54503/0514-7484-2022-62.3-66

Изучение влияния биологически активного метаболита на нейроны гиппокампа крыс на экспериментальной модели болезни Альцгеймера

**М.А. Даниелян, М.В. Погосян, К.В. Карапетян, О.А. Назарян,
В.П. Хачатрян, З.А. Аветисян, К.А. Небогова, Дж.С. Саркисян**

*Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

Ключевые слова: нейроны, гиппокамп, болезнь Альцгеймера, дигидроартемизинин

Болезнь Альцгеймера (БА) — одно из самых сложных прогрессирующих неврологических заболеваний, при котором происходит дегенерация нейронных связей в клетках головного мозга, приводящая к гибели клеток. Это медленно развивающееся нейродегенеративное заболевание, характеризующееся прогрессирующим ухудшением памяти и интеллекта, специфическая симптоматика которого нередко смешивается со старческими проявлениями в преклонном возрасте [7]. В настоящее время не существует лекарств, способных замедлить развитие болезни, как не существует и полного понимания причин болезни. Это, в свою очередь, затрудняет поиск лекарств и иных методов лечения. При БА представляет особую важность нарушение клеточного Ca^{2+} гомеостаза, которое ведет к повышенной выработке и накоплению β -амилоидного пептида (А β), что сопровождается потерей нейронных синапсов и прогрессирующим дефицитом нейромедиаторов. Бета-амилоид может стимулировать выработку активных форм кислорода, вызывать окислительный стресс, повреждать митохондрии, вызывать воспалительные реакции и активировать факторы, связанные с апоптозом, что приводит к гибели нейронов [3]. Все вышеизложенное способствует развитию клинических симптомов деменции [1].

Синаптическая дисфункция и нейрональная гибель затрагивают в первую очередь гиппокамп и ряд других структур головного мозга. Известно, что гиппокамп особенно подвержен дегенеративным изменениям [4, 12]. Распространенной теорией развития БА является дефицит ацетилхолина в гиппокампе из-за активации холинэстеразы, разрушающей его [15, 20]. Нейрональная гибель и синаптическое повреждение при БА, индуцированной А β , вызывают дисфункцию различных типов нейронов, таких как холинергические нейроны, а также приводят к когнитивному

дефициту [22]. Увеличение концентрации нейромедиатора глутамата, с одной стороны, провоцирует развитие возбуждающей токсичности и гибели нейронов [9], а с другой стороны, компенсация дефицита холинергической иннервации глутаматергической приостанавливает дальнейшее снижение когнитивных или познавательных функций [11]. Из вышесказанного следует, что уместной при БА признается терапевтическая стратегия, вовлекающая антиоксиданты, соединения для восстановления нейротрансмиссии, препараты, влияющие на глутаматные рецепторы, на образование Аβ и нейрофибриллярные клубки и др.

В недавнем исследовании обнаружили, что артемизинин улучшал когнитивные функции у мышей с моделью БА. Исследование показало, что артемизинин уменьшает отложение Аβ и тау-белка, уменьшает высвобождение факторов воспаления и факторов апоптоза и тем самым снижает гибель нейронов [14, 24]. Артемизинин (англ. *Artemisinin*) – активное лекарственное вещество, экстрагируемое из однолетней полыни. Препарат артемизинин используется при лечении малярии [10], обладает широким спектром активности против многих видов гельминтов [16, 23], а также проходит испытания в качестве лекарства для лечения рака [17]. В нашем исследовании мы применили дигидроартемизинин, который является активным метаболитом артемизинина, обладающим ещё большей активностью, чем сам артемизинин. Установлено, что дигидроартемизинин способен поражать метастатические клетки меланомы человека в пробирке, вызывая митохондриальный апоптоз, что приводит к снижению железозависимой генерации цитотоксического окислительного стресса [8].

Целью настоящего исследования было определить, как влияет профилактическое и терапевтическое применение дигидроартемизинина на морфофункциональное состояние нейронов гиппокампа на модели БА, индуцированной инъекцией амилоидного пептида Аβ 1-42.

Материал и методы

Эксперименты проводили на взрослых самцах белых крыс, массой 200 ± 30 г, которые содержатся в Экспериментальном центре Института физиологии им. Л.А. Орбели НАН Армении. Животных содержали в стандартных условиях вивария при $25 \pm 2^\circ\text{C}$, с пищей и водой. Все процедуры для животных проводились в соответствии с Директивой Совета Европейского сообщества 2010/63/UE и были одобрены Комитетом этики Ереванского государственного медицинского университета (Ереван, Армения).

Животные были разделены на 4 группы (по 5 в каждой группе): 1 – интактная группа, крысы не подвергались никаким экспериментальным вмешательствам (группа Нормы); 2 – контрольная группа, крысам делали двусторонние внутримозговые инъекции амилоида Аβ 1-42 (Sigma-

Aldrich, США), агрегированного согласно Maurice T. et al. [18] (группа Контроль), и выдерживали в течение 3 недель; 3 – крысам делали в/м инъекции дигидроартемизинина (7 уколов через день), спустя 1 день делали инъекцию амилоида A β 1-42 и выдерживали в течение 3 недель (группа Профилактика); 4 – крысам инъецировали амилоид A β 1-42, выдерживали в течение 3 недель, затем в/м вводили дигидроартемизинин, 7 инъекций через день (группа Терапия) Дигидроартемизинин в профилактической и терапевтической группах вводили в дозе 4,4 мг/кг. Для создания модели животным был билатерально инъецирован агрегированный амилоид A β 1-42 в концентрации 1 мг/мл (на каждое животное 3 мкл раствора, со скоростью 1,0 мкл/мин) в поле CA1 гиппокампа мозга, с использованием 10-миллиметрового микрошприца Гамильтона с иглой 26G. Билатеральные инъекции проводились согласно координатам стереотаксического атласа [19] (AP–2,76; L \pm 1,5; DV+3,5 мм). Хирургические манипуляции и инъекции проводили под анестезией пентобарбиталом (40 мг/кг, в/б). Все гистохимические исследования проводились после создания модели БА и завершения уколов.

С целью изучения морфофункционального состояния клеточных структур гиппокампа крыс был применён гистохимический метод выявления активности Ca²⁺-зависимой кислой фосфатазы (КФ) [2]. Данный метод дает возможность получения богатой в морфологическом аспекте картины, а также сведений о метаболизме изучаемых структур. Животные были наркотизированы нембуталом (40-45 мг/кг, в/б) с последующим изъятием мозга, который фиксировали в 5% растворе нейтрального формалина в течение 48 часов при +4°C. Из кусочков мозга готовили замороженные срезы толщиной 40-50 мкм, промывали в дистиллированной воде и переносили в инкубационную смесь для избирательного выявления нервных клеток: 20 мл 0,4% раствора уксуснокислого свинца; 5 мл 1М ацетатного буфера, pH 5,6; 5 мл 2% раствора β -глицерофосфата натрия. Инкубацию проводили в термостате при 37°C в течение 1,5 часов. Затем следовали промывка срезов в дистиллированной воде, проявка в растворе сульфата натрия, сушка и заключение в бальзам с последующим описанием препаратов. Съемки полученных препаратов производились с помощью фотонасадки AmScope MU800 через световой микроскоп OPTON (West Germany).

Результаты и обсуждение

Гиппокамп принадлежит к одной из наиболее старых систем мозга – лимбической, чем обуславливается значительная многофункциональность гиппокампа. Собственно гиппокамп (или Аммонов рог) представляет собой плотную ленту клеток, тянущуюся в переднезаднем направлении вдоль медиальной стенки нижнего рога бокового желудочка мозга (рис. 1

а). Основные нервные клетки гиппокампа представлены пирамидными нейронами и полиморфными клетками, большинство из которых являются вставочными нейронами с отростками, не выходящими за пределы гиппокампа. Установлено, что при БА особенно сильно поражаются нейроны поля СА1 [13], поэтому в нашей работе мы обратили внимание на них. Поле СА1 считается одним из основных полей собственно гиппокампа. Оно расположено в дорсальном гиппокампе, отличается небольшими, плотно расположенными в 2 слоя пирамидными нейронами, которые выделяются гиперхроматичностью (рис. 1 А; рис. 2 А). По форме они полигональные, треугольные, овальные. Апикальные дендриты пирамид СА1 идут на значительном расстоянии от клетки в виде единого ствола и не имеют крупных шипиковых выростов. В телах и отростках клеток гиппокампа содержатся интенсивно окрашенные крупные гранулы, причем наиболее темно окрашивается основание апикальных дендритов (рис. 1 А; рис. 2 А).

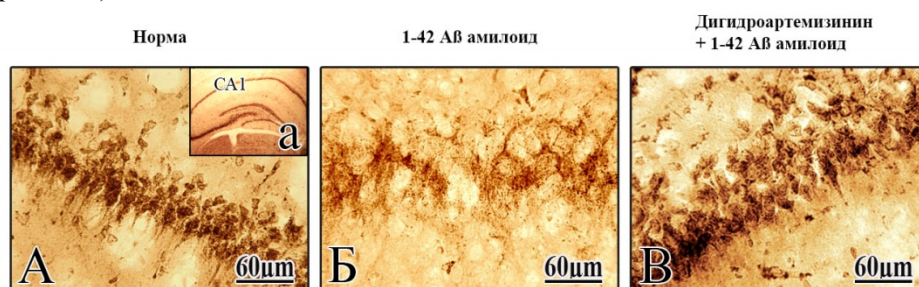


Рис. 1. Фронтальные срезы поля СА1 гиппокампа intactных крыс (А, группа Норма), в условиях двусторонней инъекции амилоидного пептида Аβ 1-42 (Б, группа Контроль) и в сочетании с предварительным введением ди гидроартемизинина (В, группа Профилактика). А – нейроны поля СА1 характерной формы и размеров, с длинными отростками и высокой фосфатазной активностью в цитоплазме; Б – центральный хроматолиз, нарушение формы и размеров нейронов, снижение фосфатазной активности, отсутствие отростков; «опустошённые» от нейронов участки; В – сохранение нормальной морфологии нейронов, выявление апикального и боковых дендритов, высокая фосфатазная активность в цитоплазме нейронов; заполненные нейронами участки поля СА1. Оптическое увеличение: $\times 400$ (А, Б, В)

Результаты морфогистохимического исследования мозга крыс при введении амилоида Аβ 1-42 (группа Контроль) выявили поражения нервной ткани, затрагивающие, прежде всего, нервные клетки, их отростки, а также окружающие глиальные элементы. Наблюдается нарушение структурной целостности нейронов, отсутствие реакции нейروفибрилл в пирамидных клетках гиппокампа. Выраженные дегенеративные изменения отмечаются в поле СА1. Нейроны теряют характерную форму и размеры, контуры становятся неправильными, нечеткими, у них перестают

реагировать отростки и наблюдается картина центрального хроматолиза (рис. 1 Б; рис. 2 Б).

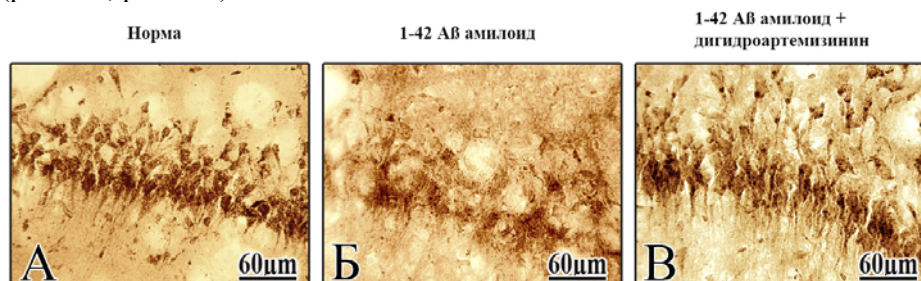


Рис. 2. Фронтальные срезы поля CA1 гиппокампа intactных крыс (А, группа Норма), в условиях двусторонней инъекции амилоидного пептида Аβ 1-42 (Б, группа Контроль) и в сочетании с последующим введением ди гидроартемизинина (В, группа Терапия). А – нейроны поля CA1 характерной формы и размеров, с длинными отростками и высокой фосфатазной активностью в цитоплазме; Б – «опустошённые» от нейронов участки, центральный хроматолиз, нарушение формы и размеров нейронов, отсутствие отростков, снижение фосфатазной активности в сохранившихся нейронах; В – отсутствие «пробелов» в клеточной реакции, сохранение нормальной морфологии нейрона; интенсивно окрашенные нейроны, апикальные и боковые дендриты хорошо выявляются.

Оптическое увеличение: $\times 400$ (А, Б, В)

Морфологическая картина характеризуется резким падением фосфатазной активности в цитоплазме нейронов поля CA1 (рис. 1 Б). Процессы нейронального расщепления сопровождаются губчатым альвеолярным состоянием цитоплазмы нейронов в полях CA1, причем весьма характерными являются кругообразные «опустошенные» от нейронов участки, окаймленные различной формы Гомори-позитивной грануляцией. В целом, картина расположения нервных клеток напоминает пчелиные соты с ячейками (рис. 1 Б; рис. 2 Б). В межклеточном пространстве обнаруживаются ядра глиальных клеток. В таких раздражительных дегенеративных процессах, по-видимому, участвует ряд коррелятивных элементов, в которых значительную роль играет активно пролиферирующаяся сателлитная нейроглия, окружающая нервные клетки. Дегенеративные процессы в нервной ткани, впрочем, как и в любой, вызывают определенные физические, химические, морфофункциональные изменения, вследствие чего происходит усиление или замедление процессов выделения продуктов нарушенного обмена и очищения пораженных тканей. Эти продукты расщепления имеют как внутриклеточное, так и внеклеточное расположение [5].

Таким образом, при Аβ-индуцированной нейродегенерации характерным морфологическим признаком являются «пробелы», характеризующиеся исчезновением реакции нейронов в архитектонике размещенных в порядке клеточных слоев мозговой коры. Нейроны поля CA1

гиппокамп теряют характерную форму, контуры становятся неправильными, нечеткими, у них перестают реагировать отростки и наблюдается картина центрального хроматолиза. В цитоплазме нейронов наблюдается резкое падение фосфатазной активности (снижение уровня обменных процессов). Картина нейронов, с точки зрения их структуры, является морфологическим доказательством расстройств их метаболизма и характеризуется дезорганизацией нормальной тканевой структуры и накоплением патологических продуктов внутри нейронов и внеклеточном пространстве [6].

При предварительном введении дигидроартемизинина (группа Профилактика) на срезах гиппокампа крыс, подвергнутых впоследствии воздействию амилоида А β 1-42, отмечается плотное расположение клеток во всех извилинах. В поле СА1 сохраняются характерные размеры и форма нервных клеток (рис. 1 В). Цитоплазма нейронов интенсивно окрашена, ядра занимают центральное положение, реагируют ядра глии. Выявляются верхушечные и боковые дендриты. Местами в поле СА1 нейроны кругообразно начинают вдаваться в глубь гиппокампа, за счет усиления пролиферирующих процессов; вследствие этого увеличиваются клеточные ряды поля СА1 (рис. 1 В).

Результаты исследований по применению дигидроартемизинина до введения амилоида А β 1-42 показывают, что по сравнению с моделью БА наблюдаются сохранение структурных свойств нейронов, плотное расположение нейронов в полях гиппокампа, повышенный метаболизм. По сравнению с моделью БА наблюдается повышенная фосфатазная активность в цитоплазме и ядре клеток, что говорит об активном уровне обменных процессов, направленных на поддержание гомеостаза организма, нарушаемого в результате А β -индуцированной нейродегенерации. Таким образом, профилактический прием дигидроартемизинина препятствует развитию токсического эффекта амилоида А β 1-42.

На модели нейродегенерации, вызванной инъекцией амилоида А β 1-42, при систематическом введении дигидроартемизинина в гиппокампе отмечается увеличение плотности расположения клеток во всех полях, в том числе и в поле СА1, «пробелов» в клеточной реакции не наблюдается по сравнению с моделью БА (рис. 2 Б, В). На срезах гиппокампа в поле СА1 видны участки, заполненные интенсивно окрашенными нервными клетками. В некоторых участках, благодаря активации пролиферирующих процессов, наблюдается увеличение слоев пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа (рис. 2 В). Сохраняются характерные размеры и форма нервных клеток, у которых реагируют отростки, ядро находится в центре клетки и цитоплазма заполнена зернами осадка. Вокруг сомы и отростков видны различной формы зернышковые грануляции, что характерно для первично раздраженных нейронов, находящихся на пути к восстановлению (рис. 2 В). Возможно, их присутствие можно рассматривать как

адаптивный ответ, задерживающий более прогрессирующую нейрофибриллярную путаницу и противодействующий развитию нейрофибриллярных клубков [21].

Результаты исследований по применению дигидроартемизинина после введения амилоида A β 1-42 (группа Терапия) свидетельствуют о тенденции к сохранению структурно-функциональных особенностей клеточных структур поля СА1 гиппокампа. По сравнению с моделью БА, отмечается сохранение морфологической картины нейронов, увеличение плотности расположения нейронов в полях гиппокампа, повышение фосфатазной активности в цитоплазме и ядре клеток (активация обменных процессов), что определяет клеточное выживание.

Таким образом, полученные данные дают основание полагать, что дигидроартемизинин, применяемый профилактически, тормозит развитие патологических изменений в гиппокампе, которые характерны для токсического влияния амилоида A β 1-42. В отличие от модели БА, морфологическая картина нейронов близка к норме, наблюдаются повышенный уровень метаболизма в нейронах гиппокампа, усиление Ca²⁺-зависимых процессов фосфорилирования, которые определяют лучшую выживаемость клеток. Дигидроартемизинин, применяемый после инъекции амилоида A β 1-42, действует в качестве нейропротекторного агента, который препятствует или замедляет повреждение ткани мозга, а также способствует восстановлению нейронов и их окружения. Протекторный эффект дигидроартемизинина может быть опосредован активирующим воздействием на холинергическую передачу, тормозным действием на ГАМК (тормозящий нейромедиатор в центральной нервной системе), что имеет цель оптимизации процесса регенерации. Наши результаты подтверждают возможный потенциал дигидроартемизинина как нового многоцелевого препарата, который можно будет использовать для профилактики и лечения болезни Альцгеймера.

Поступила 27.04.22

**Ալցհեյմերի հիվանդության փորձարարական մոդելում
առնետների հիպոկամպի նյարդաբջիջների վրա
կենսաբանական ակտիվ մետաբոլիտի ազդեցության
ուսումնասիրությունը**

**Մ.Հ. Դանիելյան, Մ.Վ. Պողոսյան, Բ.Վ. Կարապետյան, Օ.Հ. Նազարյան,
Վ. Պ. Խաչատրյան, Զ.Ա. Ավետիսյան, Բ. Ա. Ներսիսյան,
Զ.Ս. Սարգսյան**

A β 1-42 ամիլոիդի ներարկման պայմաններում կատարվել է առնետների հիպոկամպի բջջային կառույցների մորֆոֆունկցիոնալ վիճակի համեմատական ուսումնասիրություն՝ համակցված դիֆիդրոարտեմիզինինի ներ-

մուծմամբ՝ β -ամիլոիդի ներարկումից առաջ և հետո: Հիպոկամպում $A\beta$ -ով հարուցված նեյրոդեգեներացիային բնորոշ ձևաբանական հատկանիշներ են համարվում ֆոսֆատազային ակտիվության կտրուկ նվազումը, CA1 դաշտի նյարդաբջջիջների կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ առանձնահատկությունների խախտումը: β -ամիլոիդի ներարկումից առաջ և հետո դիհիդրոարտեմիզինի համակարգային ներմուծման պայմաններում հիպոկամպի CA1 դաշտում նյարդաբջջիջների ձևաբանական պատկերը քիչ թե շատ պահպանված է, ակնառու են նյարդաբջջիջների խիտ դասավորվածությունը և նյութափոխանակային պրոցեսների բարելավումը, ինչն էլ ապահովում է բջջային գոյատևումը: Այսպիսով, կանխարգելման նպատակով կիրառվող դիհիդրոարտեմիզինը հիպոկամպում արգելակում է ախտածին փոփոխությունների զարգացումը, որոնք բնորոշ են $A\beta$ 1-42 ամիլոիդի թունավոր ազդեցության դեպքում: Իսկ $A\beta$ 1-42 ամիլոիդի ներարկումից հետո կիրառվող դիհիդրոարտեմիզինը գործում է որպես նյարդապաշտպան միջոց, որն էլ կանխում կամ դանդաղեցնում է ուղեղի հյուսվածքի վնասումը:

Study of the Effect of a Biologically Active Metabolite on Rat Hippocampal Neurons in an Experimental Model of Alzheimer's Disease

M. H. Danielyan, M. V. Poghosyan, K. V. Karapetyan, O. H. Nazaryan, V. P. Khachatryan, Z. A. Avetisyan, K. A. Nebogova, J. S. Sarkissian

A comparative study of the morphofunctional state of the cellular structures of the hippocampus of rats was carried out with the introduction of amyloid $A\beta$ 1-42, combined with the introduction of dihydroartemisinin before and after the injection of β -amyloid. In the hippocampus, a characteristic morphological sign in $A\beta$ -induced neurodegeneration is a sharp drop in phosphatase activity, a violation of the structural and functional features of field CA1 neurons. With the systemic administration of dihydroartemisinin before and after the injection of β -amyloid, the morphological pattern of neurons in the CA1 field of the hippocampus is more or less preserved, a dense arrangement of neurons and normalization of metabolism are noted, which determines cellular survival. Thus, dihydroartemisinin, used prophylactically, inhibits the development of pathological changes in the hippocampus, which are characteristic of the toxic effect of amyloid $A\beta$ 1-42. Dihydroartemisinin given after injection of $A\beta$ 1-42 amyloid, acts as a neuroprotective agent that prevents or slows brain tissue damage.

Литература

1. *Гомазков О.А.* Старение мозга и нейротрофины. М., 2011.
2. *Меликсетян И.Б.* Выявление активности Ca^{2+} -зависимой кислой фосфатазы в клеточных структурах мозга крыс. Морфология, СПб., 2007, т. 131, 2, с. 77-80.
3. *Alexiou A., Kamal M. A., Md Ashraf G.* Editorial: The Alzheimer's Disease Challenge. Front. Neurosci., 2019, v. 13, article 768 (5p.) doi: 10.3389/fnins.2019.00768

4. *Andersen J.V., Skotte N. H., Christensen S. K. et al.* Hippocampal disruptions of synaptic and astrocyte metabolism are primary events of early amyloid pathology in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Cell Death Dis.*, 2021, v. 12, 954. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04237-y>
5. *Armstrong R. A., Cairns N. J., Lantos P. L.* Are pathological lesions in neurodegenerative disorders the cause or the effect of the degeneration? *Neuropathology*, 2002, v. 22, № 3, p. 133-46. doi: 10.1046/j.1440-1789.2002.00446.x.
6. *Azam S., Haque M. E., Balakrishnan R., Kim I-S., Choi D-K.* The Ageing Brain: Molecular and Cellular Basis of Neurodegeneration. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2021, 9:683459. doi: 10.3389/fcell.2021.683459
7. *Brendza R.P., Holtzman D.M.* Amyloid- β immunotherapies in Mice and Men. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, 2006, v. 20, № 2, pp. 118-123.
8. *Cabello C. M., Lamore S. D., Bair W. B., Qiao S., Azimian S., Lesson J. L., Wondrak G. T.* The redox antimalarial dihydroartemisinin targets human metastatic melanoma cells but not primary melanocytes with induction of NOXA-dependent apoptosis. *Invest. New Drugs*, 2011, v. 30, № 4, p. 1289–1301. doi:10.1007/s10637-011-9676-7
9. *Dong X. X., Wang Y., Qin Z. H.* Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin.*, 2009, v. 30, № 4, p. 379-387. doi:10.1038/aps.2009.24
10. *Douglas N. M., Anstey N. M., Angus B .J., Nosten F., Price R. N.* Artemisinin combination therapy for vivax malaria. *The Lancet*, 2010, v. 10, №. 6, pp. 405–416. doi:10.1016/S1473-3099(10)70079-7
11. *Ferreira-Vieira T. H., Guimaraes I. M., Silva F. R., Ribeiro F.M.* Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Curr Neuropharmacol.*, 2016, v. 14, № 1, pp. 101-115. doi:10.2174/1570159x13666150716165726
12. *Halaby I. A., Takeda Y., Yufu K., Nowak Jr. T. S., Pulsinelli W. A.* Depolarization thresholds for hippocampal damage, ischemic preconditioning, and changes in gene expression after global ischemia in the rat. *Neurosci Lett.*, 2004, v. 372, № 1-2, pp. 12–16.
13. *Hof P. R., Bussière T., Gold G., Kövari E., Giannakopoulos P., Bouras C., Perl D. P., Morrison J. H.* Stereologic Evidence for Persistence of Viable Neurons in Layer II of the Entorhinal Cortex and the CA1 Field in Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 2003, v. 62, № 1, pp. 55–67. <https://doi.org/10.1093/jnen/62.1.55>
14. *Hunt S., Yoshida M., Davis C., Greenhill N., Davis P.* An extract of the medicinal plant *Artemisia annua* modulates production of inflammatory markers in activated neutrophils. *J Inflamm Res.*, 2015, v. 8, pp. 9-14. <https://doi.org/10.2147/JIR.S75484>
15. *Kakimura J., Kitamura Y., Takata K. et al.* Possible involvement of ER chaperone Grp78 on reduced formation of amyloid-beta deposits. *Ann NY Acad. Sci.*, 2002, v. 977, pp. 327-332.
16. *Keiser J., Utzinger J.* Artemisinins and synthetic trioxolanes in the treatment of helminth infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2007, v. 20, № 6, pp. 605—612. doi:10.1097/QCO.0b013e3282f19ec4
17. *Lai H. C., Singh N. P., Sasaki T.* Development of artemisinin compounds for cancer treatment. *Invest New Drugs*, 2013, v. 31, № 1, p. 230-46. doi: 10.1007/s10637-012-9873-z.

18. *Maurice T., Privat A.* Sigma1 (sigma 1) receptor agonists and neurosteroids attenuate beta 25–35-amyloid peptide-induced amnesia in mice through a common mechanism. *Neuroscience*, 1998. v. 83, pp. 413–428.
19. *Paxinos G., Watson C.* The rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005, p. 367.
20. *Stanciu G.D., Luca A., Rusu R.N., Bild V., Chiriac S. I. B., Solcan C., Bild W., Ababei D. C.* Alzheimer's Disease Pharmacotherapy in Relation to Cholinergic System Involvement. *Biomolecules*, 2020, v. 10(1); 40; <https://doi.org/10.3390/biom10010040>
21. *Tolnay M., Clavaguera F.* Argyrophilic grain disease a late-onset dementia with distinctive features among tauopathies. *Neuropathology*, 2004, v. 24, p. 269–283.
22. *Wu X., Kosaraju J., Tam K. Y.* Anti-neuroinflammatory effects of SLOH in Abeta-induced BV-2 microglial cells and 3xTg-AD mice involve the inhibition of GSK-3beta. *Neurosci Lett*, 2018, v. 687, p. 207–215. doi: 10.1016/j.neulet.2018.09.056
23. *Xiao S. H.* Development of antischistosomal drugs in China, with particular consideration to praziquantel and the artemisinins. *Acta Trop.*, 2005, v. 96, № 2–3, p. 153–167. doi:10.1016/j.actatropica., 2005.07.010
24. *Zhao X., Li S., Gaur U., Zheng W.* Artemisinin Improved Neuronal Functions in Alzheimer's Disease Animal Model 3xtg Mice and Neuronal Cells via Stimulating the ERK/CREB Signaling Pathway. *Aging Dis.*, 2020, v. 11. № 4, p. 801–819. doi: 10.14336/AD.2019.0813