

doi: 10.25005/2074-0581-2024-26-3-407-416

## МОЗГОВОЙ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР, СОРБИРОВАННЫЙ НА ПОЛИЛАКТИДНЫХ НАНОЧАСТИЦАХ, ПОКРЫТЫХ ПОЛОКСАМЕРОМ 188, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ АНТИДЕПРЕССАНТ, ВОЗДЕЙСТВУЮЩИЙ НА НЕЙРОЭНДОКРИННУЮ СИСТЕМУ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕПРЕССИИ

Н.А.Д. БИНТИ РАЗЛАН<sup>1</sup>, М.Ю. КАПИТОНОВА<sup>1</sup>, С.Б. ТАЛИП<sup>1</sup>, Н. РАМЛИ<sup>1</sup>, И.Б. БРОХИ<sup>1</sup>, Т.М. НВЕ<sup>2</sup>,  
Р.Н. АЛЮТДИН<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Факультет медицины и здравоохранения, Университет Малайзии Саравак, Кота Самархан, Малайзия

<sup>2</sup> Королевский колледж медицины, Университет ЮниКЛ, Ипох, Малайзия

<sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Российская Федерация

**Цель:** изучить влияние мозгового нейротрофического фактора, сорбированного на полилактидных наночастицах, покрытых полоксамером 188 (brain-derived neurotrophic factor – BDNF), на экспериментальную депрессию, не связанную со стрессом, у мышей.

**Материал и методы:** эксперимент проведён на тридцати шести мышах линии C57BL/6 массой 20-25 г, у которых моделировалась резерпин-индуцированная депрессия. Животные были разделены на три группы, получавшие внутривенно: I группа – физиологический раствор (отрицательный контроль), II группа – традиционный антидепрессант флуоксетин (положительный контроль) и III группа – BDNF (экспериментальная группа). В конце эксперимента проведены поведенческие тесты (открытое поле, предпочтение сахарозы, принудительное плавание) и измерена концентрация кортикостерона в крови с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Проведён имидж-анализ гистологических изменений надпочечников и тимуса. Все результаты были статистически обработаны с использованием программного обеспечения SPSS 27.0.1.

**Результаты:** у животных экспериментальной группы наблюдались статистически значимо меньший уровень кортикостерона в крови ( $p < 0,01$ ), существенные положительные изменения поведения в тестах открытое поле (пройденное расстояние, количество задних стоек, частота мочеиспускания и дефекации,  $p < 0,01$ ) и предпочтения сахарозы ( $p < 0,01$ ), а также большую продолжительность активной фазы в тесте принудительного плавания ( $p < 0,01$ ), чем у животных группы отрицательного контроля. У мышей экспериментальной группы также обнаружено статистически значимое снижение объёмной плотности пучковой зоны коры надпочечников ( $p < 0,05$ ), а также площади её спонгиозитов и их ядер ( $p < 0,05$ ) по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор, в то время как между группой отрицательного и положительного контроля различия по данным параметрам были статистически не значимы. В тимусе животных экспериментальной группы отмечено статистически значимо более высокое корково-мозговое соотношение по сравнению с группой отрицательного ( $p < 0,01$ ) и положительного ( $p < 0,05$ ) контролей и более низкая объёмная плотность макрофагов с апоптозными тельцами ( $p < 0,05$ ) и по сравнению с группой отрицательного контроля, которая между контрольными группами статистически значимо не различалась.

**Заключение:** исследование показало эффективность лечения моделируемой депрессии BDNF, по ряду показателей сопоставимую с традиционным антидепрессантом флуоксетином (поведенческие тесты, уровень снижения кортикостерона в крови), а по другим показателям – превышающую её (гиперплазия пучковой зоны коры надпочечников, и гипертрофия её клеток, а также уровень иммуносупрессивных изменений в тимусе). Таким образом, с учётом полученных данных, BDNF можно рассматривать как потенциальное средство для лечения депрессии у человека.

**Ключевые слова:** BDNF, PLGA, депрессия, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось.

**Для цитирования:** Бинти Разлан НАД, Капитонова МЮ, Талип СБ, Рамли Н, Брохи ИБ, Нве ТМ, Алютдин РН. Мозговой нейротрофический фактор, сорбированный на полилактидных наночастицах, покрытых полоксамером 188, как потенциальный антидепрессант, воздействующий на нейроэндокринную систему при экспериментальной депрессии. *Вестник Авиценны*. 2024;26(3):407-16. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2024-26-3-407-416>

## NANOPARTICULATE BDNF AS A POTENTIAL ANTIDEPRESSANT VIA NEUROENDOCRINE MECHANISMS IN EXPERIMENTAL MODEL OF DEPRESSION

N.A.D. BINTI RAZLAN<sup>1</sup>, M. KAPITONOVA<sup>1</sup>, S.B. TALIP<sup>1</sup>, N. RAMLI<sup>1</sup>, I.B. BROHI<sup>1</sup>, T.M. NWE<sup>2</sup>, R.N. ALYAUTDIN<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak, Kota Samarahan, Malaysia

<sup>2</sup> Royal College of Medicine, UniKL, Ipoh, Malaysia

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> Scientific Center of Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation

**Objective:** To study the effect of a nanoparticulate brain-derived neurotrophic factor with surfactant (BDNF) on the modeled depression not associated with stress in mice.

**Methods:** Thirty-six C57BL/6 mice weighing 20-25 g were included in the study with reserpine-induced depression. The animals were divided into three groups: Group 1 – negative control, involving animals treated with normal saline, Group 2 – positive control involving animals treated with a traditional antidepressant fluoxetine, and Group 3 – experimental, treated with nanoparticulate BDNF with a surfactant. Open field, sucrose

preference, and forced swimming tests were applied in the study, and the ELISA method was used to determine the corticosterone level in the serum. Digital morphometry of the adrenal cortex and thymus was done. SPSS 27.0.1 software was used for statistics, with a  $p < 0.05$  level of significance.

**Results:** The mice of the BDNF and fluoxetine groups exhibited meaningfully lower levels of serum corticosterone ( $p < 0.01$ ), and considerable improvements in the open field, sucrose preference, and forced swimming tests ( $p < 0.01$ ) than the animals of the normal saline group. Digital morphometry showed a meaningful reduction in the share of the zona fasciculata in the adrenal gland, the area of its cells, and their nuclei in the BDNF group compared to the animals treated with normal saline ( $p < 0.05$ ). In contrast, the difference between the fluoxetine and normal saline groups was insignificant. A meaningfully higher thymic cortex-medulla ratio was noted in the mice of the BDNF group compared to the normal saline ( $p < 0.01$ ) and fluoxetine ( $p < 0.05$ ) groups, and a lower percentage of macrophages with apoptotic bodies compared to normal saline ( $p < 0.01$ ) and fluoxetine groups ( $p < 0.05$ ), which was not significantly different between the fluoxetine and normal saline groups.

**Conclusion:** Nanoparticulate BDNF with a surfactant shows the efficacy of treatment of modeled depression comparable with the traditional antidepressant fluoxetine, as evidenced by behavioral tests, decreased corticosterone levels, or even exceeding it, as shown by significantly reduced hyperplasia of the zona fasciculata of the adrenal gland and of its cells, as well as reduced immunosuppressive changes in the thymus (higher corticomedullary ratio, lower volume density of the tingible body macrophages). These results underscore the potential of nanoparticulate BDNF as a treatment for depression not associated with stress.

**Keywords:** BDNF, PLGA, depression, hypothalamic-pituitary-adrenal axis.

**For citation:** Binti Razlan NAD, Kapitonova M, Talip SB, Ramli N, Brohi IB, Nwe TM, Alyautdin RN. Mozgovoy neyrotroficheskiy faktor, sorbirovanny na polilaktidnykh nanochastitsakh, pokrytykh poloksamerom 188, kak potentsial'nyy antidepressant, vozdeystvuyushchiy na neyroendokrinnuyu sistemu pri eksperimental'noy depressii [Nanoparticulate BDNF as a potential antidepressant via neuroendocrine mechanisms in experimental model of depression]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]*. 2024;26(3):407-16. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2024-26-3-407-416>

## ВВЕДЕНИЕ

Депрессивные расстройства являются актуальной проблемой современного здравоохранения во всём мире, что обусловлено постоянным ростом заболеваемости, тяжёлыми личными страданиями пациентов, риском самоубийств и значительной финансовой нагрузкой на общественное здравоохранение, вызванной длительной нетрудоспособностью пациентов. На сегодняшний день около 280 миллионов человек страдает данным недугом, что делает его самым частым неврологическим расстройством и одной из наиболее частых причин смерти. По данным ВОЗ, к 2030 году депрессивные расстройства поднимутся на I место по такому показателю, как бремя болезней, с III места, которое они занимали в 2008 году. Лечение депрессий остаётся большой проблемой современной медицины, поскольку около 70% больных оказываются рефрактерными к медикаментозному лечению [1-5].

Считается, что в развитии депрессии большую роль играют нейротрофины, важнейший среди которых – BDNF [6]. С ним связаны нейрогенез, выживаемость и регенерация нейронов, их синаптическая пластичность, а также миелинизация нервных волокон, которые реализуются при его связывании с рецепторами TrkB [7-11]. Он задействован в процессах обучения, памяти, реакциях на боль и стресс [12-15].

В соответствии с нейротрофической теорией депрессии стрессорные факторы внешней среды вызывают снижение синтеза BDNF и нарушение BDNF/TrkB сигналинга в отделах мозга, реализующих когнитивные функции и регуляцию настроения, что приводит к дефициту нейрогенеза и нейропластичности, снижению синаптической пластичности, нарушению синаптической передачи и усиливает дегенерацию нейронов. Эти нарушения приводят к появлению структурных изменений головного мозга, в частности, атрофии префронтальной коры и гиппокампа, что ложится в основу депрессивных расстройств [16-22].

Очевидно, что BDNF может быть эффективно использован при лечении клинической депрессии и других хронических заболеваний нервной системы, однако, будучи крупной белковой молекулой, он не проникает через гематоэнцефалический барьер. Полимерные наночастицы, такие как PLGA, являются средством доставки BDNF в головной мозг [23].

## INTRODUCTION

Depressive disorders are a big problem of modern health-care worldwide, which is due to the constant increase in morbidity, severe personal sufferings of patients, the risk of suicide, and a significant financial burden on public healthcare caused by long-term disability of patients. Today, about 280 million people suffer from this disease, which makes it the most common neurological disorder and one of the most common causes of death. According to WHO, by 2030, depressive disorders will rise from 3<sup>rd</sup> place as a disease burden, which they occupied in 2008, to 1<sup>st</sup> place. Treatment of depression remains a significant problem of modern medicine since about 70% of patients are refractory to drug treatment [1-5].

It is believed that neurotrophins, the most important of which is BDNF, play a major role in the development of depression [6]. Neurogenesis, survival, and regeneration of neurons, their synaptic plasticity, and myelination of nerve fibers are associated with BDNF, which binds to the TrkB receptors [7-11]. BDNF is involved in learning, memory, pain, and stress responses [12-15].

According to the neurotrophic theory of depression, environmental stressors decrease BDNF synthesis and disrupt BDNF/TrkB signaling in brain regions involved in cognitive function and mood regulation, resulting in deficits in neurogenesis and neuroplasticity, reduced synaptic plasticity, impaired synaptic transmission, and increased neuronal degeneration. These impairments result in structural changes in the brain, particularly atrophy of the prefrontal cortex and hippocampus, which underlie depressive disorders [16-22].

BDNF can effectively treat clinical depression and other chronic diseases of the nervous system. However, being a large protein molecule, it does not penetrate the blood-brain barrier. Polymer nanoparticles like PLGA may deliver BDNF to the brain [23].

At the same time, there is evidence [6] that selective serotonin reuptake inhibitors, such as fluoxetine, do not increase BDNF levels in the blood even if the clinical effect is achieved, and therefore it cannot be used as an indicator of the severity

Вместе с тем, есть данные [6] о том, что селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, в частности флуоксетин, не способствует повышению уровня BDNF в крови даже при достижении выраженного антидепрессивного действия. Помимо этого, даже при изменении уровня BDNF в крови, в связи с лечением антидепрессантами, его параллелизма с клиническим эффектом не наблюдается, в связи чем использовать его в качестве показателя тяжести течения заболевания и эффективности лечения не представляется возможным [18], что может объясняться тем, что на уровень BDNF крови может влиять его экспрессия эндотелиальными клетками, лимфоцитами и другими клетками крови, а также гладкими миоцитами [7, 8].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние BDNF, сорбированного на полилактидных наночастицах, покрытых полоксамером 188, на экспериментальную депрессию, не связанную со стрессом, у мышей.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включено 36 мышей самцов C57BL/6 весом 20-25 г, находящихся в стандартных условиях виварного содержания с неограниченным доступом к воде и корму, за исключением времени проведения теста предпочтения сахарозы с предварительным этапом привыкания. Ко всем животным была применена резерпиновая модель депрессии, описанная нами ранее [24], после чего мыши были произвольно распределены по трём группам. Животные первой группы получали внутривенно физраствор, второй группы – лечение стандартным антидепрессантом флуоксетином внутривенно, и третья группа получала также внутривенно раствор BDNF, сорбированный на наночастицах PLGA с полоксамером 188 [25]. По окончании лечения были произведены тесты открытого поля, форсированного плавания и предпочтения сладкого [24]. Затем методом ELISA определялась концентрация кортикостерона в сыворотке крови. Забой проводился посредством декапитации. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с протоколом, одобренным Этическим комитетом университета Universiti Malaysia Sarawak.

Количественная оценка изменений в эндокринных железах и иммунных органах проводилась с использованием программы цифровой морфометрии Image Pro+ 7.0 (Media Cybernetics, USA). Анализу подвергались тимус и надпочечники подопытных мышей с использованием алгоритма, описанного нами ранее [24]. Поведенческие реакции и результаты тестов форсированного плавания и предпочтения сладкого оценивались с помощью статистической программы SPSS 27. Результаты цифровой морфометрии обрабатывались с применением критерия Стьюдента при  $p < 0,05$  уровне статистической значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки уровня поведенческого дефицита у экспериментальных животных показаны на рис. 1-3.

Рис. 1 демонстрирует наличие высоко статистически значимого улучшения всех трёх параметров поведения (расстояния, пройденного в тесте открытого поля; числа задних стоек и количества болюсов) при лечении флуоксетином и BDNF по сравнению с физраствором ( $p < 0,01$ ), при этом между последними различий не выявлено.

of the disease and the effectiveness of treatment [18]. This discrepancy may be explained by BDNF expression found in endotheliocytes, lymphocytes, and the other blood cells, and smooth myocytes [7, 8]

## THE PURPOSE OF THE STUDY

To investigate the effect of BDNF adsorbed on polylactide nanoparticles coated with poloxamer 188 on experimental depression not associated with stress in mice.

## METHODS

The study included 36 male C57BL/6 mice weighing 20-25 g, kept under standard vivarium conditions with unlimited access to water and food, except for the time of the sucrose preference test with a preliminary habituation stage. All animals were subjected to the reserpine model of depression described by us earlier [24], after which the mice were randomly divided into three groups. Animals of the Group 1 received intravenous treatment with normal saline, Group 2 – treatment with the standard antidepressant fluoxetine intravenously, and Group 3 received an intravenous solution of BDNF adsorbed on PLGA nanoparticles with poloxamer 188 [25]. At the end of the treatment, open field, forced swimming, and sucrose preference tests were performed [24]. Then, the concentration of serum corticosterone was measured by ELISA. Animals were sacrificed by decapitation. All manipulations with animals were carried out per the protocol approved by the Universiti Malaysia Sarawak Ethics Committee.

Quantitative assessment of changes in the endocrine glands and immune organs performed using the digital morphometry program Image Pro+ 7.0 (Media Cybernetics, USA). The thymus and adrenal glands of the experimental mice were analyzed using the algorithm described by us earlier [24]. The open field, forced swimming, and sucrose preference test results were assessed using the statistical program SPSS 27. The results of digital morphometry were processed using the Student's test at a significance level of  $p < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of assessing the behavioral deficit level in experimental animals are shown in Fig. 1-3.

Fig. 1 demonstrates the presence of highly significant improvement in all three behavioral parameters (distance covered in the open field test, number of rearings, and number of boluses) with fluoxetine and BDNF treatment compared to saline ( $p < 0.01$ ), while no differences were found between the fluoxetine and BDNF.

Fig. 2 shows the behavior of the experimental mice during forced swimming. This test was conducted before and after treatment. Before treatment, the animals of all three groups had approximately the same swimming, freezing, and struggling time, with a significant predominance of the freezing phase. After treatment, the animals of the fluoxetine and BDNF groups significantly increased in the time of swimming and struggling, while the freezing time decreased ( $p < 0.01$ ). This test also did not reveal any significant differences between the mice treated with fluoxetine and BDNF.