

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-356

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИЗОМЕРИЗОВАННОЙ ФОРМЫ В-АМИЛОИДА
ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ СИМПТОМОВ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА****THE MODELING OF ALZHEIMER'S DISEASE SYMPTOMS
USING THE ISOMERIZED FORM OF B-AMYLOID**

В. М. Ушакова^{1,2}, Я. А. Зоркина¹, О. В. Абрамова¹, Е. П. Барыкин³, Е. А. Зубков¹, А. Г. Очнева¹,
М. П. Валихов¹, А. Н. Ванеев⁴, В. А. Митькевич³, О. И. Гурина¹, В. П. Чехонин¹, А. Ю. Морозова¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии
им. В. П. Сербского Минздрава России, Москва

²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

³Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

⁴Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва

V. M. Ushakova^{1,2}, Ya. A. Zorkina¹, O. V. Abramova¹, E. P. Barykin³, E. A. Zubkov¹, A. G. Ochneva¹,
M. P. Valikhov¹, A. N. Vaneev⁴, V. A. Mitkevich³, O. I. Gurina¹, V. P. Chekhonin¹, A. Yu. Morozova¹

¹Serbsky National Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology, Moscow

²Lomonosov Moscow State University

³Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow

⁴MISIS University of Science and Technologies, Moscow

✉ ushakovavm@yandex.ru

Аннотация

Патогенез болезни Альцгеймера тесно связан с накоплением β -амилоида. Химические модификации белка, такие как изомеризация, увеличивают его патогенность. В нашей работе мы оценили эффекты стереотаксического введения изомеризованной формы β -амилоида. Введение белка индуцировало симптомы, характерные для болезни Альцгеймера и привело к увеличению окислительного стресса в головном мозге крыс.

Abstract

The pathogenesis of Alzheimer's disease is closely related to the accumulation of β -amyloid. Chemical modifications of the protein, such as isomerization, increase its pathogenicity. In our research, we evaluated the effects of stereotactic administration of an isomerized form of β -amyloid. The protein injection induced symptoms of Alzheimer's disease and increased an oxidative stress in the rat brain.

Болезнь Альцгеймера поражает около 27 миллионов человек по всему миру, являясь наиболее распространенной формой деменции [1]. Осложняет проблему отсутствие эффективной терапии заболевания, которая на текущий момент, главным образом, оказывает симптоматическое лечение [2].

Одними из основных механизмов развития патологии считаются накопление бляшек β -амилоида и фосфорилирование тау-белка. Сенильные бляшки и растворимые олигомеры амилоида содержат множество модифицированных форм белка. Наиболее распространенной формой модификации является изомеризация по 7 остатку аспаргиновой кислоты [3]. Показано, что изомеризация амилоида усиливает нейротоксичность, оказывает негативное влияние на нейрональные рецепторы, индуцирует фосфорилирование тау *in vitro* и амилоидогенез *in vivo* [3, 4]. Ввиду этого целью нашей работы стала оценка возможности индукции признаков болезни Альцгеймера у лабораторных крыс после стереотаксического введения олигомеров изомеризованной формы β -амилоида в желудочки головного мозга.

В работе были использованы 24 самца крыс линии Wistar возрастом около 2 месяцев. Животные были разделены на группу контроля (ложнооперированные животные), группу, подвергавшуюся введению олигомеров β -амилоида, и группу, подвергавшуюся введению олигомеров изомеризованной формы β -амилоида. Оптимальные сроки инкубации и температурный режим (4 °C, 24 ч) для получения необходимой формы белка были выбраны при помощи атомно-силового микроскопа. Стереотаксическое введение раствора в желудочки головного мозга крыс осуществлялось по следующим координатам: AP:-1; ML:±1,5; DV:-4,3. Для оценки влияния β -амилоида

на когнитивные функции крыс был проведен тест «Водный лабиринт Морриса». Измерение уровня окислительного стресса в гиппокампе и фронтальной коре крыс проводилось методом электрохимического интравитального анализа с использованием платиновых наноэлектродов. Накопление амилоидных бляшек в тканях головного мозга крыс было оценено методом иммуногистохимического анализа. Статистический анализ полученных данных проводился в программе jamovi (версия 2.3.21).

По результатам исследования были выявлены когнитивные нарушения у крыс, подвергавшихся стереотаксическому введению β -амилоида. В частности, было показано значимое увеличение времени поиска платформы у группы изо-амилоида по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), а также снижение длительности нахождения в отсеке, где ранее располагалась платформа, у группы, которой вводили немодифицированную форму белка. Кроме того, в обеих экспериментальных группах был статистически значимо снижен процент успешных попыток при обучении ($p < 0,05$). Оценка уровня окислительного стресса в структурах головного мозга крыс выявила различия только у группы, которой вводилась изомеризованная форма β -амилоида ($p < 0,05$). Иммуногистохимическое исследование срезов головного мозга животных выявило накопление β -амилоида в тканях мозга в обеих экспериментальных группах.

Таким образом, стереотаксическое введение патогенного белка в желудочки головного мозга животных индуцировало симптомы, характерные для болезни Альцгеймера: снижение когнитивных функций, накопление β -амилоида, а также повышение уровня окислительного стресса [2]. Тем не менее выраженные различия между формами белка были получены лишь при оценке окислительного стресса. Дальнейшая работа должна быть направлена на углубление поведенческого анализа, а также на более подробное изучение эффектов введения изомеризованной формы белка.

Литература

1. Silva M. V. F., Loures C. M. G., Alves L. C. V., de Souza L. C., Borges K. B. G., Carvalho M. D. G. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures // *Journal of biomedical science*. 2019. Vol. 26(1). P. 33.
2. Breijyeh Z., Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment // *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 5789.
3. Barykin E. P., Garifulina A. I., Kruykova E. V., Spirova E. N., Anashkina A. A., Adzhubei A. A., Shelukhina I. V., Kashesheverov I. E., Mitkevich V. A., Kozin S. A., Hollmann M., Tsetlin V. I., Makarov A. A. Isomerization of Asp7 in Beta-Amyloid Enhances Inhibition of the $\alpha 7$ Nicotinic Receptor and Promotes Neurotoxicity // *Cells*. 2019. Vol. 8(8). P. 771.
4. Kozin S. A., Barykin E. P., Telegin G. B., Chernov A. S., Adzhubei A. A., Radko S. P., Mitkevich V. A., Makarov A. A. Intravenously Injected Amyloid- β Peptide With Isomerized Asp7 and Phosphorylated Ser8 Residues Inhibits Cerebral β -Amyloidosis in A β PP/PS1 Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease // *Frontiers in Neuroscience*. 2018. Vol. 12. P. 518.