

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА.

Салова В.В., Аветисова И.В., Дугина В.А.

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава Российской Федерации, направление подготовки «Биология»,
Россия, Волгоград, e-mail: salova7852@outlook.com

Аннотация: Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной причиной снижения когнитивных способностей. Это нейродегенеративное заболевание, вызываемое гибелью нейрональных клеток, которое обычно поражает людей старше 65 лет. Обычно гибель клеток начинается в энторинальной коре головного мозга в гиппокампе. У людей больных БА происходит нарушение речи, памяти, внимания, суждений и рассуждений. БА можно классифицировать по тому, когда проявляется заболевание и передается ли оно по наследству. Болезнь Альцгеймера с ранним началом (EOAD) возникает в возрасте до 65 лет, тогда как болезнь Альцгеймера с поздним началом (LOAD) составляет более 95% случаев и проявляется после 65 лет. Семейная БА имеет менделевское наследование, в то время как спорадическая БА не показывает простой семейной связи. Почти все EOAD являются семейными, поскольку они вызваны мутациями в *APP*, *PSEN1* или *PSEN2*. К сожалению, не существует ни эффективных профилактических мер, способных приостановить развитие заболевания, ни эффективных методов лечения, поскольку данное заболевание относится к мультифакторным. Ученым сложно справиться с задачей изучения патогенеза БА и поиска эффективного лечения, потому что практически невозможно разграничить в исследованиях все факторы от конкретного изучаемого фактора. Существует множество экспериментальных моделей, отражающих ту или иную сторону БА. Выделяют модели на клеточных культурах и на животных.

Ключевые слова: Болезнь Альцгеймера (БА), клеточная модель, модель на животных, стволовые клетки, крысы

EXPERIMENTAL MODELING OF ALZHEIMER'S DISEASE

Salova V.V., Avetisova I.V., Dugina V.A.

FSBEI HE VolgSMU Of the Ministry of Healthcare of the Russian, direction of preparation
«Biology», Russia, Volgograd, email: salova7852@outlook.com

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of cognitive decline. It is a neurodegenerative disease caused by neuronal cell death that usually affects people over the age of 65. Usually, cell death begins in the entorhinal cortex in the hippocampus. In people with AD, speech, memory, attention, judgment and reasoning are impaired. AD can be classified by when the disease manifests and whether it is inherited. Early onset Alzheimer's disease (EOAD) occurs before age 65, whereas late onset Alzheimer's disease (LOAD) accounts for more than 95% of cases and manifests after age 65. Familial BA has Mendelian inheritance, while sporadic BA shows no simple familial connection. Almost all EOADs are familial as they are caused by mutations in *APP*, *PSEN1* or *PSEN2*. Unfortunately, there are no effective preventive measures that can stop the development of the disease, nor effective methods of treatment, since this disease belongs to multifactorial. It is difficult for scientists to cope with the task of studying the pathogenesis of AD and finding an effective treatment, because it is almost impossible to distinguish all factors from a specific studied factor in research. There are many experimental models reflecting one or another side of BA. There are models on cell cultures and on animals.

Key words: Alzheimer's disease (AD), cell model, animal model, stem cells, rodents

Около двух третей страдают болезнью Альцгеймера (БА), необратимым нейродегенеративным расстройством, включающим снижение памяти и исполнительной функции, а также изменение личности. Болезнь названа в честь Алоиса Альцгеймера, который впервые охарактеризовал БА в 1906 году. БА приводит к потере синапсов и

атрофии нейронов преимущественно в гиппокампе и коре головного мозга. Она характеризуется наличием амилоидных бляшек и нейрофибриллярных тау-клубков (NFT), скоплений неправильно свернутых белков по всему мозгу. Считается, что как генетические, так и экологические факторы играют роль в развитии БА. Хотя существует небольшое количество случаев из-за доминирующих генетических мутаций, большинство случаев АД являются спорадическими и не имеют единой генетической причины. Экологические и метаболические факторы риска, такие как диабет, цереброваскулярные заболевания, неправильное питание, травмы головы и стресс, связаны с повышенным риском развития деменции. Ученым все еще не хватает фундаментального понимания того, как развивается БА, и методов лечения, помогающих людям бороться с болезнью. БА - это хроническое заболевание, проявляющееся потерей памяти, речи, когнитивных способностей и навыков решения проблем, изменениями в поведении и, в конечном счете, смертью. Хотя основными признаками являются потеря памяти и исполнительная дисфункция, им часто предшествуют изменения языка и зрения. Кроме того, не все типы памяти страдают одинаково. У людей с БА серьезно нарушена эпизодическая, семантическая и рабочая память, однако долговременная память, такая как процедурная память, имеет тенденцию оставаться нетронутой[4; 7].

Клеточные культуры подразделяются на 2D и 3D культуры, отличительной особенностью которых является быстрая воспроизводимость и легкость создания, однако такие модели в среднем функционируют около двух недель, в отличие от моделей на животных. В обычной 2D культуре нейроны АД человека содержат повышенный уровень p-tau, но они не образуют амилоидных бляшек или нейрофибриллярных клубков, которые являются ключевыми патологическими признаками АД. Недавние достижения в области технологий культивирования стволовых клеток человека и трехмерных (3D) культур позволили создать новые 3D модели культивирования нервных клеток, которые воспроизводят патологии АД, включая стойкое отложение A β и A β -обусловленную NFT-подобную тау-патологию. Эти новые 3D-модели АД в культуре клеток человека обещают создать новую платформу, которая может быть использована для изучения механизмов в среде, подобной человеческому мозгу, и для высокопроизводительного скрининга лекарств. По сравнению с обычными 2D-культурами клеток и моделями на животных, 3D-модели культивирования клеток человека при БА могут быть более экономичными и менее трудоемкими при разработке новых лекарств от БА[1; 6].

За последнее десятилетие индуцированные плюрипотентные стволовые (iPS) клетки произвели революцию в использовании человеческих моделей неврологических

заболеваний *in vitro*. Соматические клетки (кровь, кожа и т.д.), полученные от человека, превращаются с помощью эктопического транскрипционного коктейля факторов "Таманака" *in vitro* в колонии iPS-клеток. На этом этапе или позже методы редактирования генома могут быть использованы для создания изогенных линий, содержащих специфические мутации или трансгены. Затем происходит дифференцировка iPS-клеток в нервные клетки, которые включают нейроны, микроглию, астроциты и олигодендроциты, а также нервные клетки-предшественники. На стадии iPS-клеток самоорганизующиеся тканевые цитосистемы или органоиды также могут быть созданы в трехмерной культуре. Нервные клетки, дифференцированные из линий iPS со спорадическим или семейным фоном БА, могут демонстрировать ряд БА-подобных фенотипов, которые могут быть проанализированы *in vitro*. К ним относятся выработка β -амилоидного пептида и, в случае трехмерной культуры, амилоидные бляшки, тау-патология, синаптическая дисфункция, иммунная активация, геномная нестабильность и аберрантный транспорт эндосом. Полученные из iPS и дифференцированные клетки позволяют исследователям изучать влияние определенного типа клеток на здоровье и болезни, а также проводить скрининг терапевтических препаратов на генетическом фоне человека. Использование данной модели позволяет исследователям проводить углубленную характеристику нервных клеток как семейных, так и спорадических пациентов с БА, а также проводить доклинические скрининги клеток человека[5].

Экспериментальные модели с использованием животных были первыми, применявшимися для исследования БА. Несмотря на значительное количество прошедшего времени, они не утратили своей актуальности благодаря созданию и применению все новых вариантов их исполнения. Модели на животных делятся на 2 основные категории: модели, осуществляемые стереотаксическим (инъекционным) методом и трансгенные модели – путем редактирования генома подопытных животных.

Стереотаксические модели БА – это экспериментальные модели, осуществляемые путем стереотаксического введения вещества в мозг животного. Гистопатологически одним из основных признаков БА является отложение внеклеточного нейритного амилоидного β -пептида (A β), который в конечном итоге образует сенильные бляшки. Эти отложения присутствуют в основном в гиппокампе и коре. Стереотаксическая инфузия олигомерного A β в гиппокамп крысам (можно также использовать мышей) представляет собой метод, включающий прямую инфузию олигомерных видов A β в паренхиму головного мозга. Обычно целью инфузии является субрегион CA1 гиппокампа, так как эта область мозга является одной из областей, наиболее пораженных нейродегенерацией при БА; альтернативно, этот пептид можно вводить в неокортекс, в соответствии с целью

эксперимента. Инфузия олигомерного А β в мозг крысы дикого типа обеспечивает превосходную модель *in vivo*, которая воспроизводит амилоидопатию и последующую гибель нейронов. Способность данных моделей отражать патогенез заболевания на молекулярном и клеточном уровне является весьма условной, поскольку не предполагают воссоздания процесса развития болезни, а скорее воссоздают конечный результат, то есть являются малопригодными для изучения причин заболевания и механизмов его возникновения[3].

При создании трансгенных организмов широко используются две основные стратегии: пронуклеарная инъекция и генно-направленная замена. Первый заключается в микроинъекции комплементарной ДНК, содержащей трансген, в пронуклеус многих зигот. Трансгены состоят из области, кодирующей представляющий интерес белок, и промотора, управляющего его экспрессией. Вставка ДНК в геном хозяина происходит случайным образом, что приводит к вставке нескольких копий в один геном. Полученные эмбрионы имплантируют псевдобеременным самкам для нормальной беременности. В противном случае во второй стратегии вектор-мишень вводится в эмбриональную стволовую клетку для модификации одного из ее генов. Кратко, гомологичная рекомбинация между эндогенным геном и вектором (содержащим модифицированную версию гена) позволяет интегрировать желаемую модификацию под нативным промотором. Затем ген-направленные эмбриональные стволовые клетки вводят эмбрионам мышей дикого типа на стадии бластоцисты, после чего их имплантируют. Трансгенные линии начинаются с тех потомков, которые включают мутацию. Как правило, пронуклеарная инъекция приводит к сверхэкспрессии трансгенных белков, в то время как стратегия нацеливания на гены чаще используется для получения мышей с нокаутом, экспрессирующих гены под эндогенными промоторами, или мышей с нокаутом. Трансгенные линии начинаются с тех потомков, которые включают мутацию. Как правило, пронуклеарная инъекция приводит к сверхэкспрессии трансгенных белков, в то время как стратегия нацеливания на гены чаще используется для получения мышей с нокаутом, экспрессирующих гены под эндогенными промоторами, или мышей с нокаутом. Трансгенные линии начинаются с тех потомков, которые включают мутацию. Как правило, пронуклеарная инъекция приводит к сверхэкспрессии трансгенных белков, в то время как стратегия нацеливания на гены чаще используется для получения мышей с нокаутом, экспрессирующих гены под эндогенными промоторами, или мышей с нокаутом.

Так, созданная трансгенная модель БА с внедрением трех патологических генов – белка-предшественника бета-амилоида (APP), пресенилин-1 и тау, была использована для

исследования влияния повреждений ДНК на прогрессировании когнитивных нарушений, гибели нейронов и синаптической дисфункции[2].

Данная группа моделей более сложна в исполнении по сравнению со стереотаксическими моделями, но ее бесспорным преимуществом является возможность исследования наследственных факторов риска, возможность наблюдения за патогенезом заболевания с ранних этапов.

Список литературы:

1. Choi S. H. и др. 3D culture models of Alzheimer's disease: a road map to a "cure-in-a-dish" // *Mol Neurodegener.* 2016. Т. 11. С. 75.
2. Esquerda-Canals G. и др. Mouse Models of Alzheimer's Disease // *J Alzheimers Dis.* 2017. Т. 57. № 4. С. 1171–1183.
3. Facchinetti R., Bronzuoli M. R., Scuderi C. An Animal Model of Alzheimer Disease Based on the Intrahippocampal Injection of Amyloid β -Peptide (1-42) // *Methods Mol Biol.* 2018. Т. 1727. С. 343–352.
4. Kumar A. и др. *Alzheimer Disease* // *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
5. Mungenast A. E., Siegert S., Tsai L.-H. Modeling Alzheimer's disease with human induced pluripotent stem (iPS) cells // *Mol Cell Neurosci.* 2016. Т. 73. С. 13–31.
6. Qu W., Canoll P., Hargus G. Molecular Insights into Cell Type-specific Roles in Alzheimer's Disease: Human Induced Pluripotent Stem Cell-based Disease Modelling // *Neuroscience.* 2022.
7. Sheppard O., Coleman M. *Alzheimer's Disease: Etiology, Neuropathology and Pathogenesis* // *Alzheimer's Disease: Drug Discovery* / под ред. X. Huang. Brisbane (AU): Exon Publications, 2020.