

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.  
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра физиологии человека и животных

**ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМАЛОГЕНОВ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ  
МЫШЕЙ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 421 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Куркаева Сайхана Эмдыевича

Научный руководитель:

доцент, док. биол. наук \_\_\_\_\_ О. В. Семячкина-Глушковская  
(подпись, дата)

Зав. кафедрой:

доцент, док. биол. наук \_\_\_\_\_ О. В. Семячкина-Глушковская  
(подпись, дата)

Саратов 2025

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера характеризуется прогрессирующим когнитивным дефицитом, обусловленным нейродегенеративными процессами, включающими накопление бляшек бета амилоида ( $A\beta$ ), образование нейрофибриллярных клубков и хроническое нейровоспаление [1]. Эти патологические изменения приводят к нарушению синаптической пластичности, дисфункции нейротрансмиттерных систем (преимущественно холинергической и глутаматергической) и, как следствие, к выраженным нарушениям памяти, обучения и других когнитивных функций [2]:

Современные фармакологические подходы, такие как ингибиторы ацетилхолинэстеразы (донепезил) и антагонисты NMDA-рецепторов (мемантин), обеспечивают лишь симптоматическое улучшение, временно компенсируя нейротрансмиттерный дисбаланс [3]. Однако они не воздействуют на основные патогенетические механизмы, не замедляют прогрессирование заболевания и часто вызывают побочные эффекты [4]. Кроме того, эти препараты не корректируют дефицит плазмалогенов — эфирных фосфолипидов, критически важных для поддержания нейронального гомеостаза и клиренса  $A\beta$  [5].

Плазмалогены, представляющие собой винил-эфирные фосфолипиды, обладают мультимодальным нейропротективным действием: модулируют G-белок-зависимую сигнализацию, подавляют нейровоспаление и усиливают клиренс  $A\beta$  [6]. При болезни Альцгеймера наблюдается значительное снижение их уровня, что коррелирует с когнитивными нарушениями [7]. Экспериментальные данные свидетельствуют, что экзогенное введение плазмалогенов может восстановить синаптическую пластичность и улучшить когнитивные функции, что делает их перспективным кандидатом для разработки патогенетической терапии [8].

Таким образом, изучение влияния плазмалогенов на когнитивные функции в эксперименте представляет собой многообещающее направление для разработки новых нейропротективных стратегий.

Целью данного исследования является изучение влияния плазмалогенов на когнитивные функции у мышей с болезнью Альцгеймера.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние плазмалогенов на очищение тканей мозга от А $\beta$  при болезни Альцгеймера с применением иммуноферментного анализа;
2. Оценить влияние плазмалогенов на когнитивные способности мышей с болезнью Альцгеймера с помощью проведения когнитивно-поведенческих тестов.

## Основная часть

Болезнь Альцгеймера (БА) – самая частая причина деменции. Деменция характеризуется как стойкое снижение познавательной деятельности с утратой в той или иной степени ранее усвоенных знаний, практических навыков и затруднением или невозможностью приобретения новых. Данные симптомы наблюдаются при поражении головного мозга, причиной которого могут быть различные заболевания, в том числе и БА [9].

Важным профилактическим фактором выступает активная умственная и социальная деятельность, которая создает “церебральный резерв” и замедляет развитие когнитивных нарушений. Исследования показывают, что высокий уровень образования и постоянная интеллектуальная активность позволяют дольше сохранять когнитивные функции даже при наличии нейродегенеративных изменений в мозге.

Таким образом, поддержание активного интеллектуального и социального образа жизни может служить эффективной профилактикой когнитивных нарушений и замедлять прогрессирование болезни Альцгеймера [12].

Плазмалогены представляют собой важный, но недостаточно изученный класс фосфолипидов, составляющих около 20% всех липидов в организме человека. Их уникальная структура с виниловой эфирной связью определяет особые физико-химические свойства и двойную роль в организме: они могут действовать как антиоксиданты, защищая клеточные мембраны от окислительного стресса, так и проявлять прооксидантные свойства, способствуя повреждению клеток [22].

Плазмалогены играют важную роль в развитии болезни Альцгеймера, при которой наблюдается их значительный дефицит. Снижение уровня этих липидов коррелирует с тяжестью заболевания и начинается задолго до появления симптомов.

Дефицит плазмалогенов связан с дисфункцией пероксисом и окислительным стрессом. Они проявляют нейропротективные свойства:

поддерживают стабильность микроглии, ингибируют воспаление и усиливают экспрессию BDNF в гиппокампе.

Терапевтический потенциал плазмалогенов связан с улучшением синаптической передачи и транспортом нейротрансмиттеров [24].

## **Материалы исследования**

### *Объекты исследования*

Во всех экспериментах использовали самцов мышей BALB/c, полученных из Национального ресурсного центра лабораторных животных в Пущино (Московская область, Россия). Животные содержались в стандартных лабораторных условиях с доступом к пище и воде. Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных», Директивой 2010/63/EU по защите животных, используемых в научных целях, и методическими рекомендациями Министерства науки и высшего образования РФ (№ 742 от 13.11.1984), которые были одобрены Комиссией по биоэтике Саратовского государственного университета (протокол № 8 от 18.04.2023). Мыши содержались при температуре  $25 \pm 2$  °C, влажности 55 % и цикле свет-темнота 12:12 ч.

Эксперименты проводили в следующих группах:

- мыши с БА без ПЛ;
- мыши с БА с ПЛ;
- 6-, 14-, 24-месячные мыши без ПЛ;
- 6-, 14-, 24-месячные мыши + ПЛ, n=7-8 в каждой группе.

## **Методы исследования**

Чтобы вызвать БА у мышей, использовалась инъекция пептида A $\beta$  (1-42) в гиппокамп (AP-2,0 мм; ML+/-1,3 мм; DV-1,9 мм).

После моделирования болезни Альцгеймера (БА) посредством стереотаксического введения фибриллярного A $\beta$  (1-42) в гиппокамп,

следующим этапом исследования стало введение плазмалогенов (ПЛ) для оценки их нейропротективного действия.

После 7-дневного восстановления животных от хирургических вмешательств (инъекция Аβ и имплантация катетера) был начат 21-дневный курс введения липосомальных ПЛ. Для оценки их влияния на когнитивные функции использовали комплекс поведенческих тестов:

- Павловское обусловливание.;
- Y-образный лабиринт;
- открытое поле

Для ИФА использовали набор для определения Аβ (CloudClone, № СЕА946Му). У мышей всех исследуемых групп был собран мозг и проведена дальнейшая пробоподготовка.

Все статистические анализы проводились с использованием программ ImageJ, Microsoft Office Excel и STATISTICA 10 for Windows. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (SEM). Различия в интенсивности сигнала Аβ в исследуемых тканях оценивали с помощью теста ANOVA с пост-хок тестом Дункана и U-тестом Манна-Уитни. Уровень значимости для всех анализов составлял  $p < 0,05$ . Статистические методы для определения размера выборки не использовались.

## **Результаты исследования**

### **Изучение влияния плазмалогенов на очищение тканей мозга от бета-амилоида при болезни Альцгеймера**

Для того чтобы выяснить влияет ли ПЛ на лимфатическое очищение тканей мозга при болезни Альцгеймера была выбрана инъекционная модель болезни Альцгеймера (одностороннее введение Аβ в гиппокамп), которая позволяет изучать ранние стадии Аβ-индуцированных изменений в тканях и функциях мозга.

Иммуноферментный анализ показал повышенный уровень Аβ в тканях мозга мышей с БА по сравнению с молодыми особями (6 месяцев) без применения курса ПЛ в обеих группах ( $23.43 \pm 1,14$  пг/г ткани против  $11.07 \pm 1.01$ , пг/г ткани), в то время как после применения терапии с ПЛ в этих же группах наблюдается снижение уровня Аβ в группе БА+ПЛ ( $16.07 \pm 2,14$  пг/г ткани против  $11.12 \pm 1.03$  пг/г ткани), что видно при дополнительном сравнении мышей с БА без и с применением курса ПЛ ( $23.43 \pm 1,14$  пг/г ткани против  $16.07 \pm 2,14$  пг/г ткани).

Однако курс ПЛ не влияет на уровень Аβ в тканях мозга у старых мышей (24 месяца) ( $18.83 \pm 1.07$  пг/г ткани против  $17.95 \pm 1.86$ ), в то время как у стареющих мышей (14 месяцев) наблюдается снижение Аβ после применения ПЛ ( $14.29 \pm 1.05$  пг/г ткани и  $11.00 \pm 1.01$  пг/г ткани). Это может свидетельствовать о том, что у стареющих мышей частично сохраняется лимфодренажная функция МЛС

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что на ранних стадиях болезни Альцгеймера, а также у молодых и стареющих мышей, наблюдается выраженный терапевтический эффект после применения курса ПЛ, по сравнению со старыми мышами. Это может указывать на то, что у старых мышей значительно нарушается лимфодренажная функция МЛС, что затрудняет выведение Аβ из тканей головного мозга.

### **Исследование влияния плазмалогенов на когнитивные способности мышей с болезнью Альцгеймера**

Повышение уровня Аβ в тканях мозга является не только одним из признаков развития БА, но и фактором, сопровождающим старение мозга. Во второй серии исследований изучали влияние курса ПЛ на выполнение поведенческих тестов у мышей на разных этапах онтогенеза - 6-месячных (молодые мыши), 14-месячных (стареющие мыши) и 24-месячных (старые мыши).

Поведенческие тесты выявили существенные возрастные различия в двигательной активности и обучении, но не в эмоциональном статусе (тревожное поведение) и кратковременной памяти. Так, тест “открытое поле”, который широко используется для изучения адаптивного поведения в новой среде, показал снижение пройденного расстояния с возрастом, но не времени пребывания в центре.

При выполнении Y-лабиринта и теста распознавания новых объектов не было обнаружено различий, что указывает на сохранение пространственной и распознавательной памяти у мышей разного возраста.

Формирование условного рефлекса “свет-кормление” было снижено у стареющих мышей и значительно затруднено у старых мышей по сравнению с молодыми животными (для 14- и 24-месячных мышей) и мышами среднего возраста (для 24-месячных мышей). Между молодыми и мышами среднего возраста не было различий в выполнении павловской дрессировки. Курс ПЛ значительно облегчал обучение 6- и 14-месячных мышей, но не 24-месячных животных.

Таким образом, молодые, среднего возраста и стареющие мыши, получавшие ПЛ, демонстрировали меньшее количество сеансов для формирования условного рефлекса “свет-кормление” и большее количество вознаграждений в финальном сеансе по сравнению с мышами без ПЛ. Однако курс ПЛ не влиял на обучение старых мышей. Эти данные свидетельствуют о том, что более сильные возрастные изменения касаются высшей нервной деятельности, основанной на сложном процессе обучения и формировании новых синаптических связей. ПЛ может повышать способность к обучению только на определенных этапах онтогенеза, включая молодых, средних и стареющих мышей, и не оказывает эффекта на старых животных.

## ВЫВОДЫ

1. Ранние стадии болезни Альцгеймера характеризуются снижением двигательной активности, повышением тревожности и ухудшением способности к формированию условных рефлексов;

2. Курс приема плазмалогенов значительно снижает уровень  $A\beta$  в мозге животных с инъекционной моделью болезни Альцгеймера за счет стимуляции лимфатического выведения токсичного протеина на периферию, что сопровождается повышением двигательной активности и улучшения когнитивной функции;

3. Терапевтическая эффективность плазмалогенов зависит от возраста. У старых мышей (24 месяца) препарат не оказывает значимого влияния на клиренс  $A\beta$ , что связано с возрастным снижением дренажной функции менингеальных лимфатических сосудов. У зрелых мышей (14 месяцев) плазмалогены эффективно снижают уровень  $A\beta$  в мозге до показателей, характерных для молодых животных.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Long, J. M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies / J. M. Long, D. M. Holtzman // *Cell*. — 2019. — V.179, №2. — P.312–339.
- 2 Selkoe, D. J. Alzheimer's disease: a central role for amyloid / D. J. Selkoe // *J Neuropathol Exp Neurol*. — 1994. — Vol.53, №5. — P.438–447.
- 3 Alzheimer's disease drug development pipeline: 2019 / J. Cummings [et al.] // *Alzheimers Dement (N Y)*. — 2019. — №5. — P.272–293.
- 4 Birks, J. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease / J. Birks // *Cochrane Database Syst Rev*. — 2006. — №1. — P.411–422.
- 5 Plasma Lipid Profile Reveals Plasmalogens as Potential Biomarkers for Colon Cancer Screening / A. P. Fernandes [et al.] // *Metabolites*. — 2020. — V.10, №6. — P.262–263.
- 6 Peripheral ethanolamine plasmalogen deficiency: a logical causative factor in Alzheimer's disease and dementia / D. B. Goodnowe [et al.] // *J Lipid Res*. — 2007. — V.48, №11. — P.2485–2498.
- 7 Su, X. Q. Plasmalogens and Alzheimer's disease: a review / X. Q. Su, J. Wang, A. J. Sanclair // *Lipids Health Dis*. — 2019. — V.18, №1. — P.99–100.
- 8 Деменции. Руководство для врачей. Третье издание / Н. Н. Яхно [и др.] // — Москва: МЕДпресс-информ, 2011. — 272 стр.
- 9 Nagan, N. Plasmalogens: biosynthesis and functions / N. Nagan, R. A. Zoeller // *Prog Lipid Res*. — 2001. — V.3, №40. — P.199–229.
- 10 Peroxisome-driven ether-linked phospholipids biosynthesis is essential for ferroptosis / W. Cui [et al.] // *Cell Death Differ*. — 2021. — V.28, №8. — P.2536–2551.
- 11 Paul, S. Plasmalogens: A Potential Therapeutic Target for Neurodegenerative and Cardiometabolic Disease / S. Paul, G. I. Lancaster, P. J. Meikle // *ProgLipidRes*. — 2019. — V. 74. — P.186–195.

