

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

(БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ)

Естественные науки. 2025. № 4 (21). С. 4–23.

Yestestvennye nauki = Natural Sciences. 2025; 4 (21): 4–23 (In Russ.)

Научная статья

УДК 535.822:616.8-092

doi 10.54398/2500-2805.2025.21.4.001

ПРИМЕНЕНИЕ КОНФОКАЛЬНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ ИЗУЧЕНИИ ВЛИЯНИЯ АЛЬДЕГИДОГЕННЫХ ЛИПИДОВ НА ВЫВЕДЕНИЕ А β -АМИЛОИДА У МЫШЕЙ

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, Саранцева Елена Ивановна, Искра Татьяна Дмитриевна[✉]

Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия
tata-isk@yandex.ru[✉]

Аннотация. β -Амилоид образуется при метаболизме нейронов и играет важную роль в поддержании гомеостаза мозга. В норме интенсивное образование β -амилоида в мозге сопровождается его эффективным выведением с током лимфы. Однако с возрастом и при развитии болезни Альцгеймера наблюдается чрезмерное накопление β -амилоида в мозге, приводящее к когнитивным нарушениям и дефициту памяти. В научной литературе появляются новые данные о том, что альдегидогенные липиды (плазмалогены), являющиеся одним из ключевых липидов мозга, могут быть полезны при болезни Альцгеймера и когнитивном старении. Большинство биомедицинских методов не позволяют точно и эффективно оценить процессы, происходящие в тканях головного мозга при нарушениях его работы. Поэтому в данной работе мы изучили с помощью конфокальной микроскопии и иммуногистохимического анализа влияние альдегидогенных липидов на лимфатический клиренс β -амилоида из мозга мышей разного возраста с болезнью Альцгеймера. Результаты показали, что альдегидогенные липиды эффективно снижают уровень β -амилоида в мозге. Таким образом, применение конфокальной визуализации позволило установить, что альдегидогенные липиды могут стать перспективным кандидатом для альтернативной или сопутствующей терапии болезни Альцгеймера и возрастных заболеваний мозга с целью улучшения лимфатического клиренса β -амилоида.

Ключевые слова: конфокальная микроскопия, альдегидогенные липиды, болезнь Альцгеймера; β -амилоид, лимфатический клиренс.

Благодарности: исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 24-45-00010.

Для цитирования: Семячкина-Глушкина О. В., Саранцева Е. И., Искра Т. Д. Применение конфокальной визуализации и иммуногистохимического анализа при изучении влияния альдегидогенных липидов на выведение а β -амилоида у мышей // Естественные науки. 2025. № 4 (21). С. 4–23. <https://doi.org/10.54398/2500-2805.2025.21.4.001>.

APPLICATION OF CONFOCAL IMAGING AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY TO STUDY LOCAL ALDEHYDE-PRODUCING LIPIDS ON B-AMYLOID CLEARANCE IN MICE

Semyachkina-Glushkovskaya Oksana V., Sarantseva Elena I., Iskra Tatiana D.

Saratov State University, Russia, 410012, Saratov, Astrakhanskaya St., 83
tata-isk@yandex.ru[✉]

Abstract. Study conditions that ensure brain tissues clearance from metabolites and toxins are getting more relevant within the context of the study of neurological diseases and pathophysiological conditions. Disruption of clearance processes can lead to inflammation, neurodegeneration and other complications. The research problems are related to neuroimaging, which allows studying various structures of the brain limited by the skull bones. In this regard, one of the main tasks of modern neuroscience is the search for visualization methods of brain structures allowing to improve its tissues' clearance. In this work we studied the effect of plasmalogens on the lymphatic clearance of β -amyloid from the brain of mice with Alzheimer's disease and mice of different age using confocal microscopy and immunohistochemistry. β -Amyloid is taken up by neurons as a result of metabolism and plays a major role in maintaining homeostasis. β -amyloid in the norm formed in the brain is excreted by lymph through the meningeal vessels into the deep cervical nodes. However, with age and during the development of Alzheimer's disease, we observe excessive accumulation of β -amyloid in the brain, which leads to neurodegenerative disorders. According to new data, plasmalogens, which are one of the key lipids of the brain, may be useful in Alzheimer's disease and cognitive aging. The results show that PIs effectively increases the level of β -amyloid in the brain. Thus, the use of confocal imaging may be a promising for alternative or adjunctive therapy for Alzheimer's and age-related brain diseases used to improve lymphatic clearance of β -amyloid.

Key words: confocal microscopy, aldehyde-producing lipids, Alzheimer's disease, β -amyloid, lymphatic clearance.

Acknowledgments: the study was carried out with financial support from the Russian Science Foundation grant 23-75-30001.

For citation: Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Sarantseva E. I., Iskra T. D. Application of confocal imaging and immunohistochemical analysis in studying the effect of aldehyde-producing lipids on the elimination of $\alpha\beta$ -amyloid in mice. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2025; 4 (21): 4–23. <https://doi.org/10.54398/2500-2805.2025.21.4.001> (In Russ.).

Введение. Выбор экспериментальных подходов и аналитических методов играет ключевую роль в организации биомедицинских исследований, направленных на изучение патофизиологических процессов в тканях головного мозга с использованием лабораторных животных. В связи с этим особое

значение приобретают биофизические и биохимические методы исследования, такие как конфокальная микроскопия и иммуногистохимический анализ. Конфокальная микроскопия — один из методов оптического анализа, являющийся быстрым и экономичным способом визуализации толстых и тонких срезов тканей. Благодаря возможности получать изображения с более высокой чувствительностью, контрастностью и разрешением, биологическая визуализация значительно продвинулась и позволила изучать глубокие слои мозговой ткани. Иммуногистохимический анализ позволяет выявить заданные вещества в тканях мозга с помощью специфических маркеров, что немаловажно при исследовании накопления в мозге β -амилоида (A β) — белка, уровень которого, возрастает в мозге при болезни Альцгеймера (БА) [46; 26; 4]. A β — естественный продукт деятельности нейронов, играющий ключевую роль в регуляции гомеостаза мозга [15; 30; 42; 17]. Он образуется в результате расщепления гликопротеина и белка-предшественника амилоида (APP), участвующего в процессе передачи биоэлектрического сигнала [27]. В здоровом мозге A β высвобождается во время синаптической активности и обеспечивает её пластичность [2]. В процессе метаболизма A β , образуются его растворимые формы, которые быстро высвобождаются за пределы клетки и удаляются с помощью лимфы [7; 34; 25]. При старении происходит нарушение регуляции ферментов, участвующих в деградации A β , что приводит к возрастному снижению его клиренса из тканей мозга и образованию нерастворимых бляшек [25; 34]. Патологические изменения уровня A β играют значимую роль в развитии БА — прогрессирующего нейродегенеративного заболевания, снижающего память и способность к обучению у пожилых людей [8; 24; 32].

Поиск стратегий, направленных на улучшение выведения A β из стареющего мозга, способен привести к прогрессу как в профилактике возрастных когнитивных нарушений, так и в предотвращении развития БА у пожилых людей.

В результате таких исследований было установлено, что альдегидогенные липиды могут быть полезны при БА и когнитивном старении [3; 22; 28; 29; 31; 35; 37]. Альдегидогенные липиды — одни из ключевых липидов мозга, которые важны для поддержания его гомеостаза [9; 21], так как являются основными компонентами мембран синапсов, синаптических аппаратов и миелина [12; 38]. Благодаря своему фузогенному свойству альдегидогенные липиды играют ключевую роль в нейротрансмиссии [33], поддерживают здоровье микроглии, участвуют в иммунитете мозга [16; 22], влияют на динамику, толщину, кривизну, проницаемость и слияние мембран [39; 45], способствуют процессам сигнальной трансдукции, включая эффлюкс холестерина [5; 43]. Выявлено, что в мозге плазмалогены содержатся в большом количестве, поэтому снижение их уровня обуславливает развитие различных патологий мозга, в том числе БА и возрастных заболеваний [3; 29; 31; 37]. Существует ряд исследований, указывающих на прямую связь между дефицитом альдегидогенных липидов и БА [19; 41]. По данным Ротхаара,

А β снижает уровень плазмалогенов в мозге, а их сниженный уровень напрямую увеличивает активность γ -секретазы, что приводит к усиленной выработке А β [36].

Пероральное введение альдегидогенных липидов улучшает синаптическую пластичность мозга и компенсирует старческие изменения синапсов [22]. Плазмалогены улучшают обучение и память благодаря регуляции активности нейротрофического фактора мозга (BDNF) [40], что также лежит в основе плазмалоген-опосредованного ингибирования апоптоза нейронов и спасения их от гибели [11; 20; 21]. Эти данные позволяют предположить, что альдегидогенные липиды могут стать альтернативной терапией возрастного и вызванного БА снижения когнитивных способностей, дефицита памяти и трудностей с обучением.

В данном исследовании с помощью конфокальной микроскопии и иммуногистохимического анализа было изучено влияние альдегидогенных липидов на клиренс А β из мозга мышей-самцов с использованием двух функциональных моделей: 1) инъекционная модель БА, вызванная введением А β в зубчатую извилину гиппокампа и отражающая ранние стадии БА; 2) возрастная модель, отражающая естественные возрастные изменения в накоплении А β в мозге (рис. 1).

Материалы и методы исследования. Во всех экспериментах использовали самцов мышей C57BL/6, полученных из Национального ресурсного центра лабораторных животных в Пущино (Московская обл., Россия). Мышей содержали в виварии при стандартных условиях: температуре 25 ± 2 °C, влажности 55 % и 12-часовом световом цикле. Животные имели свободный доступ к воде и корму. 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). Эксперименты проводили в следующих группах: 1) контроль (3-месячный возраст, без альдегидогенных липидов); 2) контроль (3-месячный возраст) + альдегидогенные липиды; 3) БА (3-месячный возраст, без альдегидогенных липидов); 4) БА (3-месячный возраст) + альдегидогенные липиды; 5–7) 6-, 14-, 24-месячные мыши без альдегидогенных липидов; 8–10) 6-, 14-, 24-месячные мыши + альдегидогенные липиды, $n = 7$ –8 в каждой группе.

Приготовление липосом с альдегидогенными липидами и способ введения мышам. В работе использовали липосомы, приготовленные из фосфолипидного концентрата бычьего мозга. Идентификацию классов липидов в полученных образцах осуществляли методом одномерной тонкослойной хроматографии в системе силикагеля. Хроматограммы сканировали на сканере “Epson Perfection 2400 PHOTO” (Нагано, Япония) в режиме оттенков серого. Для сканирования использовали программу “Adobe Photoshop” (“Adobe

Systems”, San Jose, США). Процентное содержание липидов определяли по интенсивности полос с помощью программы анализа изображений “Sorbfil TLC Videodensitometer DV” (Краснодар, Россия). Перед началом измерений все приборы были прокалиброваны с помощью калибровочных стандартов. Соотношение классов липидов «фосфатидилэтаноламины – цереброзиды – фосфатидилхолины – сфингомиэлины – фосфатидилсерины – стерины» составляло 50 : 22 : 20 : 3,5 : 3 : 1,5 (по молю).

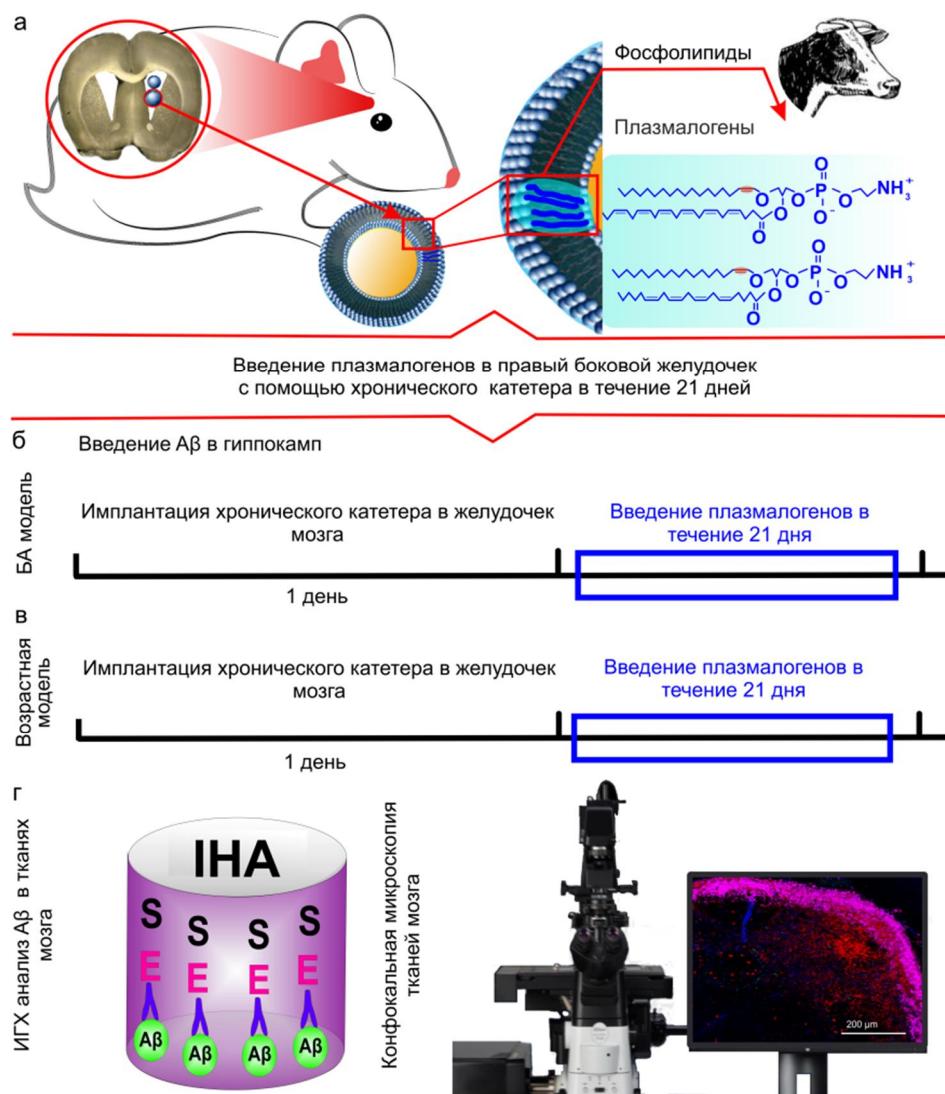


Рисунок 1 – Схематическая иллюстрация дизайна исследования: а) плазмалогены (альдегидогенные липиды (фосфолипиды из мозга быка) вводились в течение 21 дня в правый боковой желудочек через хронический катетер; эффект влияния альдегидогенных липидов на клиренс А β изучалось на двух моделях — инъекционной модели БА (б), вызванной введением А β в гиппокамп и отражающей ранние стадии БА, и возрастной модели (в), отражающей естественные возрастные изменения в накоплении А β в мозге; г) далее до и после 21-дневного курса альдегидогенных липидов был проведен качественный и количественный анализ А β в тканях мозга с использованием иммуногистохимического метода (ГХА) и конфокальной визуализации А β в мозге, мозговых оболочках и в глубоких шейных лимфатических узлах (ГШЛУ)

Для анализа содержания и структуры молекулярных видов, включая плазмалогенные формы фосфорсодержащих липидов, суммарные липиды разделяли на колонке “Shim-Packdiol” (4,6 мм × 50 мм, размер частиц 5 мкм) (“Shimadzu”, Япония) с использованием хроматографической системы “Nexera-e” (“Shimadzu”, Япония). Для определения липидов использовали tandemный масс-спектрометр высокого разрешения LCMS-IT-TOF (“Shimadzu”, Япония). Анализ проводили в режиме электрораспылительной ионизации (ESI) с одновременной регистрацией сигналов положительных и отрицательных ионов. Структурная идентификация каждого вида молекул липидов проводилась с помощью ЖХ-МС анализа и заключалась в сравнении времени удерживания, формы ионов и специфического поведения фрагментации классов фосфолипидов с коммерчески доступными стандартами липидов.

Объем 5 мкл плазмалогенов (~0,15 мг) вводили в правый боковой желудочек (AP — 1,0 мм; ML — 1,4 мм; DV — 3,5 мм) со скоростью 0,1 мкл/мин с помощью микроинжектора (“Stoelting”, Сент-Луис, США) с использованием шприца “Hamilton” с иглой 29-G (“Hamilton Bonaduz AG”, Швейцария). Имплантация хронического полиэтиленового катетера (PE-10, 0,28 мм ID × 0,61 мм OD, “Scientific Commodities Inc”, Лейк-Хавасу-Сити, Аризона, США) в правый боковой желудочек проводилась в соответствии с протоколом, представленным Devos et al. [10]. Для изучения влияния альдегидогенных липидов на клиренс Аβ из мозга и поведение использовали 21-дневный курс плазмалогенов. Курс альдегидогенными липидами начинали через 7 дней после интрагиппокампальной инъекции Аβ и / или имплантации катетера в правый боковой желудочек, когда мыши полностью восстанавливались после операции (рис. 1а/а).

Инъекционная модель ранних стадий БА. Для моделирования БА у мышей использовали инъекцию пептида Аβ (1-42) в гиппокамп (AP — 2,0 мм; ML ± 1,3 мм; DV — 1,9 мм). Аβ (1-42) растворяли в PBS, а затем инкубировали в течение 5–7 дней при 37 °C, чтобы вызвать образование фибрилл [14]. Мышей наркотизировали 1%-м изофлураном, а затем фиксировали в стереотаксической раме. Далее снимали кожу и высушивали поверхность черепа сжатым воздухом. Затем в гиппокамп вводили Аβ (1 мкл, конечная концентрация 1 мкг, или 0,2 нМ) со скоростью 0,1 мкл/мин с помощью микроинжектора (“Stoelting”, Сент-Луис, США) с использованием шприца “Hamilton” с иглой 29-G (“Hamilton Bonaduz AG”, Швейцария).

Иммуногистохимический анализ и конфокальная визуализация. Для конфокальной визуализации наличия FAB в мозговых оболочках и гиппокампе был использован протокол иммуногистохимического анализа с маркерами эндотелиального гиалуронанового рецептора 1 (LYVE 1) лимфатических сосудов и CD31 эндотелия крови. Мозг и мозговые оболочки были собраны и подготовлены свободно плавающие срезы. В качестве фиксатора использовали 4 % забуференный формалин на солевом растворе с продолжительностью фиксации 48 ч. Затем срезы тканей толщиной 40–50 мкм

нарезали на вибротоме (“Leica”, Ветцлар, Германия). Экспрессию антигенов на срезах исследуемых тканей оценивали по стандартной методике одновременного комбинированного окрашивания препарата (протоколы *abc* для свободно плавающих срезов) с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа (“Nikon A1R MP”, “Nikon Instruments Inc.”, Токио, Япония). Для блокирования неспецифической активности проводили инкубацию в течение 2 ч при комнатной температуре с применением 10%-го бычьего сывороточного альбумина (БСА), растворенного в PBS с добавлением 0,2% «Тритона X-100». Солюбилизацию мембран клеток проводили растворе 1%-го «Тритона X-100» в ФСБ в течение 1 ч инкубации при комнатной температуре. Инкубация с первичными антителами в разведении 1 : 500 проводилась в течение ночи при 4 °С: с кроличьим антителом против пептида Аβ 1–42 (1 : 200; “Cloud Clone”, № MAA946Ge21). На всех этапах образцы промывали 3–4 раза с 5-минутной инкубацией в промывочном растворе. После этого наносили соответствующие вторичные антитела козий антирабический IgG (H+L) “Alexa Flour 488” и козий антирабический IgG (H+L) “Alexa Flour 555” (“Invitrogen”, “Molecular Samples”, Юджин, Орегон, США). Для визуализации клеточных ядер применяли краситель DAPI, представляющий собой синефлуоресцентную нуклеиновую кислоту. Спектральные характеристики комплекса DAPI с двухцепочечной ДНК характеризовались максимумом поглощения при 358 нм и максимумом эмиссии при 461 нм. На заключительном этапе срезы переносили на стекло и наносили на них 15 мкл монтажной жидкости (50 % глицерина в ФСБ). Срезы накрывали покровным стеклом и проводили конфокальную микроскопию.

Уровень Аβ измеряли во всем мозге, его сосудах и глубоких шейных лимфатических узлах с использованием стандартных протоколов иммуногистохимии. Выбор этих тканей был связан с целью изучения влияния альдегидогенных липидов на лимфатическое удаление растворимого Аβ из центральной нервной системы (ЦНС), т. е. удаление Аβ, растворенного в спинномозговой жидкости (СМЖ), которая дренирует Аβ из тканей мозга в его менингиальные сосуды и затем в лимфатические узлы — первую анатомическую станцию сбора СМЖ с растворенными веществами.

ИФА-анализ тканей головного мозга. Данный анализ проводили для исследования мозговых оболочек и глубоких шейных лимфатических узлов. Для ИФА использовали набор для определения Аβ (“Cloud Clone”, № CEA946Mi). У мышей всех исследуемых групп был собран мозг и проведена дальнейшая пробоподготовка.

Для ИФА ткани мозга гомогенизировали и лизировали для дальнейшего выделения и приготовления белков по протоколу “Cloud Clone”. Лизаты тканей мозга готовили в лизирующем буфере, pH 7,2, со свежеприготовленной смесью ингибиторов протеаз (“Roche Applied Science”). Измерение оптической плотности исследуемых образцов проводили при длине волны 450 нм (A450) на автоматическом иммуноферментном анализаторе — микропланшетном спектрофотометре “Epoch Bio Tek Instruments” (“Bio Tek Instruments”,

Финляндия). Полученные данные статистически обрабатывали, доверительные интервалы определяли для 95 % уровня значимости. Обработку экспериментальных данных при объеме выборки ($n = 8-10$) проводили методом одномерного дисперсионного анализа ANOVA.

Статистический анализ. Все статистические анализы проводились с использованием программ “ImageJ”, “Microsoft Office Excel” и “STATISTICA 10 for Windows”. Во всех представленных результатах количественные данные выражены в виде среднего значения со стандартной ошибкой средней ($M \pm SEM$). Различия в интенсивности сигнала А β в исследуемых тканях оценивали с помощью теста ANOVA с апостериорным 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 и их обсуждение

Влияние альдегидогенных липидов на клиренс А β из мозга: модель ранних стадий БА. На первом этапе экспериментов было выявлено, что плазмалогены стимулировали выведение А β из мозга на ранних стадиях болезни Альцгеймера (БА). Для этого была выбрана инъекционная модель БА (инъекционная модель БА, вызванная введением А β в правую зубчатую извилину гиппокампа), которая позволяет оценить ранние стадии А β -индуцированных изменений в тканях и функциях мозга [1; 14; 44]. Исследования проводились в 4 группах: 1) контроль; 2) контроль + альдегидогенные липиды; 3) БА; 4) БА + альдегидогенные липиды. С помощью конфокальной микроскопии было показано (рис. 2а, е, л), что в контроле небольшое количество А β существует в тканях мозга, его менингеальных сосудах и глубоких шейных лимфатических узлах (ГШЛУ), что согласуется с результатами других исследователей [1]. В то же время в контроле альдегидогенные липиды не изменили уровень А β в исследуемых тканях (рис. 2б, ж, м).

С помощью конфокальной визуализации срезов, подготовленных с помощью иммуногистохимического метода, установили, что в группе мышей с БА уровень А β был значительно выше, чем в контрольных, во всех исследуемых тканях (рис. 2в, з, н). Важно отметить, что 21-дневный курс альдегидогенных липидов снизил уровень А β в головном мозге, его оболочках и в глубоких шейных лимфатических узлах (ГШЛУ) у мышей с БА (рис. 2г, и, о).

Статистический анализ подтвердил данные конфокальной микроскопии и показал повышенный уровень А β в тканях мозга мышей из группы БА, который снизился после курса альдегидогенных липидов ($23,43 \pm 1,14$ против $10,18 \pm 1,23$, пг/г ткани, $p < 0,001$, между группами БА и контроля без плазмалогенов; $16,07 \pm 2,14$ против $10,04 \pm 1,31$ пг/г ткани, $p < 0,05$, между группами «AD + альдегидогенные липиды» и «контроль + альдегидогенные липиды»; $23,43 \pm 1,14$ против $16,07 \pm 2,14$ пг/г ткани, $p < 0,01$ между группами БА без и с альдегидогенными липидами, $n = 7$ в каждой группе, тест ANOVA с апостериорным тестом Дункана). Влияние плазмалогенов на количество А β в мозге в контрольных группах отсутствовало, что, возможно, связано с низким

уровнем А β в мозге в нормальном состоянии ($10,18 \pm 1,23$ и $10,04 \pm 1,31$ пг/г ткани, $n = 7$ в каждой группе).

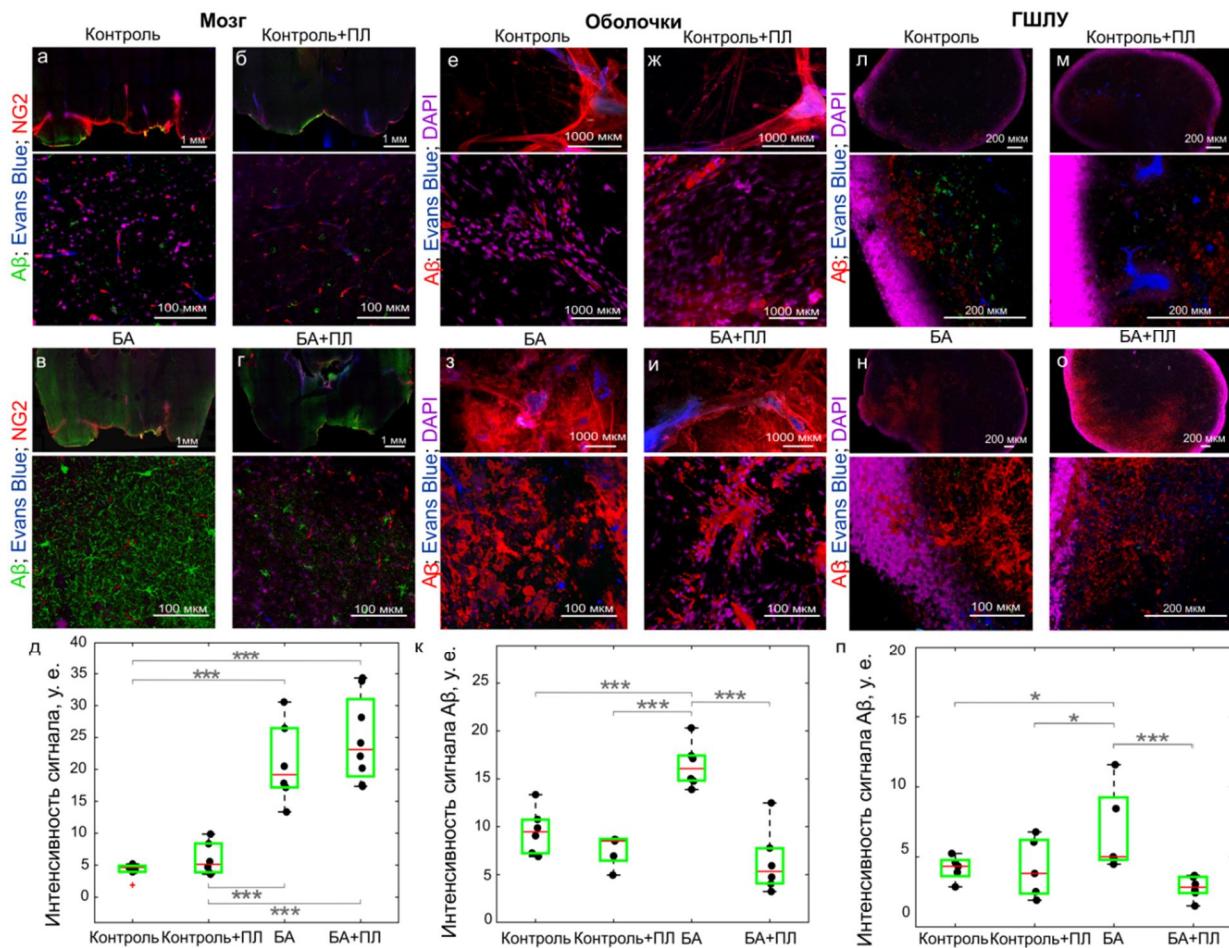


Рисунок 2 — Влияние альдегидогенных липидов на клиренс А β из мозга и мозговых оболочек в периферические лимфатические сосуды у мышей с болезнью Альцгеймера: а-г) конфокальные изображения А β (зеленый) в мозге у испытуемых групп; кровеносные сосуды заполнены “Evans Blue” (синий) и помечены NG2 (красный); е-и) конфокальные изображения А β (красный) в мозговых оболочках у испытуемых групп; (на е-и) кровеносные сосуды заполнены “Evans Blue” (синий), ядра клеток помечены DAPI (фиолетовый); д-н) интенсивность флуоресцентного сигнала от А β , меченого первичными и вторичными антителами, в головном мозге (д), мозговых оболочках (к) и в ГШЛУ (н), $n = 7$ в каждой группе; $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$, тест ANOVA с апостериорным тестом Дункана

Таким образом, лазерная сканирующая микроскопия, которая обладает четким контрастом и высоким пространственным разрешением, позволила провести качественный анализ содержания А β в тканях мозга, его оболочках и глубоких шейных лимфатических узлах. Высокая четкость дала возможность определить накопление А β и направления его выведения. На основании полученных данных было установлено, что повышенное содержание А β в мозге при БА и лимфатический путь выведения А β через оболочки мозга в периферическую лимфатическую систему могут быть скорректированы 21-дневным курсом альдегидогенных липидов.

Влияние альдегидогенных липидов на клиренс Аβ из мозга у мышей разного возраста. Повышение уровня Аβ в тканях мозга является не только одним из признаков развития БА, но и фактором, сопровождающим старение мозга. На следующем этапе исследования была изучена возможность коррекции возрастных изменений уровня Аβ в мозге, для чего изучали влияние курса альдегидогенных липидов на выведение Аβ из мозга в периферическую лимфатическую систему у мышей разного возраста: 3-месячных (молодая особь), 6-месячных (средний возраст), 14-месячных (пожилой возраст) и 24-месячных (старый возраст) мышей.

Конфокальный анализ выявил повышенное содержание Аβ в ткани головного мозга и его оболочках у 14-месячных мышей и, особенно, у 24-месячных мышей по сравнению с 3- и 6-месячными животными, которые демонстрировали одинаково низкий уровень Аβ в исследуемых тканях (рис. 3д, к, п). Интересно, что у 24-месячных мышей, несмотря на высокие значения Аβ в мозге и его оболочках, наблюдалось низкое содержание Аβ в ГШЛУ (рис. 3л-о), что, возможно, связано с возрастным снижением дренажной функции менингеальных лимфатических сосудов (МЛС) [13; 44]. Количественный иммуногистохимический и иммуноферментный анализы подтвердили увеличение уровня Аβ в мозге у 14-месячных мышей, особенно у 24-месячных (старый возраст) мышей ($14,29 \pm 1,05$ против $10,18 \pm 1,23$ пг/г ткани, $p < 0,05$ между 14- и 3-месячными мышами; $14,29 \pm 1,05$ против $11,07 \pm 1,02$ пг/г ткани, $p < 0,05$ между 14- и 6-месячными мышами; $18,83 \pm 1,07$ против $10,18 \pm 1,23$ пг/г ткани, $p < 0,001$ между 24- и 3-месячными мышами; $18,83 \pm 1,07$ против $11,07 \pm 1,01$ пг/г ткани, $p < 0,001$ между 24- и 6-месячными мышами; $18,83 \pm 1,07$ против $14,29 \pm 1,05$ пг/г ткани, $p < 0,01$, между 24- и 14-месячными мышами, $n = 7$ в каждой группе, тест ANOVA с пост-хок-тестом Дункана).

Таким образом, альдегидогенные липиды улучшают клиренс Аβ у 14-месячных мышей (пожилой возраст), но не у 24-месячных (старый возраст) мышей, что, скорее всего, связано с частичным сохранением функций менингеальных лимфатических сосудов в старом мозге [23]. Это может объяснить низкое содержание Аβ в глубоких шейных лимфатических узлах у 24-месячных мышей, несмотря на высокий уровень Аβ в мозге и оболочках и отсутствие эффекта альдегидогенных липидов на клиренс Аβ у старых мышей. У 14-месячных мышей плазмалогены усиливали выведение Аβ из мозга в периферические лимфатические пути, то есть через лимфатические пути, что приводило к снижению уровня Аβ в мозге и его оболочках до уровня молодых (3 мес.) и средневозрастных (6 мес.) животных.

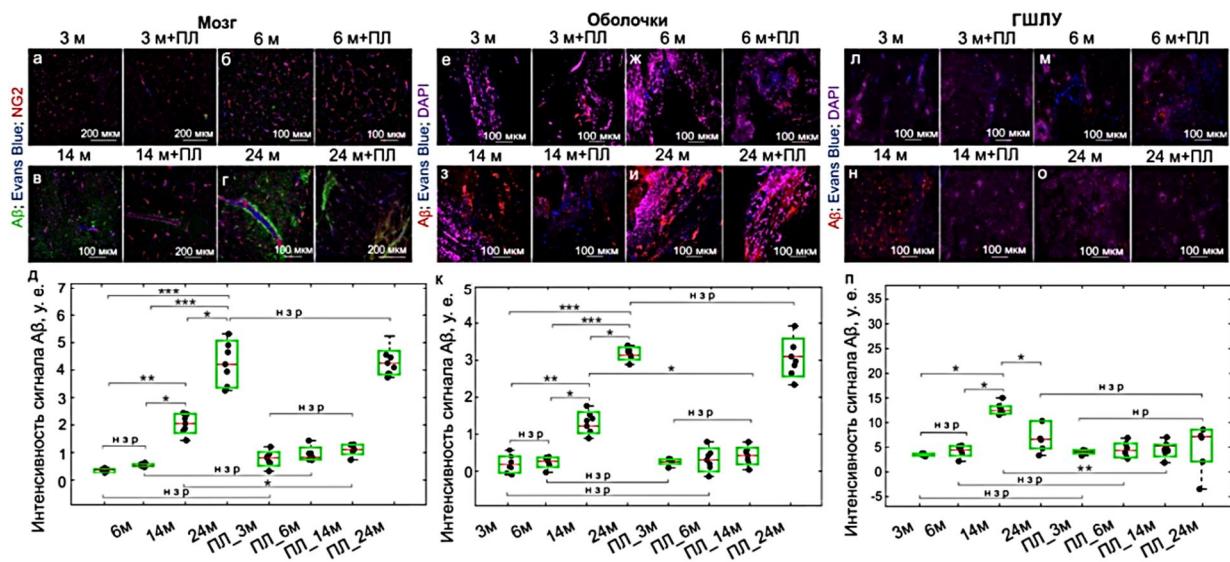


Рисунок 3 — Влияние плазмалогенов ПЛ (альдегидогенных липидов) на клиренс Аβ из мозга и мозговых оболочек в периферические лимфатические сосуды у мышей с болезнью Альцгеймера: а-д) конфокальные изображения Аβ (зеленый) в мозге у испытуемых групп; кровеносные сосуды заполнены “Evans Blue” (синий) и помечены NG2 (красный); е-к) конфокальные изображения Аβ (красный) в мозговых оболочках у испытуемых групп; л-п) конфокальные изображения Аβ (красный) в ГШЛУ у испытуемых групп. На л-о кровеносные сосуды заполнены “Evans Blue” (синий), ядра помечены DAPI (фиолетовый). Уровни Аβ в головном мозге (д), мозговых оболочках (к) и в ГШЛУ (п), $n = 7$ в каждой группе; $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$, U-тест Манна – Уитни

Полученные данные позволяют предположить, что более сильные изменения с возрастом связаны с повышенной нервной активностью, основанной на сложном процессе обучения и формировании новых синаптических связей. Альдегидогенные липиды могут повышать активность лимфатического очищения у 14-месячных мышей (пожилые), не оказывая влияния на старых животных.

Наши результаты согласуются с данными о нормальном образовании Аβ в мозге как продукта метаболизма и возрастном увеличении уровня Аβ в мозге из-за снижения с возрастом лимфатического выведения токсина [6; 7; 18; 25; 32; 34]. Результаты терапии альдегидогенными липидами подтверждают эту гипотезу. Действительно, плазмалогены улучшают клиренс Аβ у пожилых, но не у старых мышей. Есть данные, что у молодых мышей и мышей среднего возраста не наблюдается изменений в лимфатической сети [44]. Процесс гиперплазии лимфатической сети и дисфункции лимфатических клапанов начинает проявляться у стареющих мышей (начиная с 13–14-месячного возраста), что приводит к нарушению дренажной функции головного мозга [13]. У мышей с БА отложение Аβ также зависит от возрастных изменений в лимфатическом клиренсе токсина из мозга. Так, у 13–14-месячных мышей 5xFAD наблюдается ухудшение лимфатического сосудистого русла в дорсальных оболочках, что сопровождается значительным увеличением отложения Аβ во всех менингеальных сосудах [32; 44]. Возможно,

сохранение функционального потенциала МЛС у стареющих животных обусловлено эффективным выведением Аβ из тканей мозга в ГШЛУ. Это предположение основано на данных Де Мескита, свидетельствующих об улучшении иммунотерапии Аβ за счет стимуляции лимфанеогенеза [9]. Нарушение функций мозговых оболочек на поздних стадиях онтогенеза может объяснить низкое содержание Аβ в ГШЛУ у 24-месячных мышей, несмотря на высокий уровень Аβ в мозге и оболочках и отсутствие эффекта плазмалогенов на клиренс Аβ в них. Не было обнаружено влияния альдегидогенных липидов на удаление Аβ из мозга у молодых и средневозрастных мышей, что, по-видимому, связано с низким уровнем Аβ в мозге в этих возрастных группах. Эти данные представляют собой важную информационную основу для более глубокого понимания применения альдегидогенных липидов для терапии возрастных заболеваний мозга [18].

Заключение. Таким образом, применение методов конфокальной визуализации и иммуногистохимического анализа позволили получить результаты, которые убедительно свидетельствуют о том, что плазмалогены могут быть перспективным кандидатом для усиления клиренса Аβ в стареющем мозге и у больных БА. Действительно, 21-дневный курс введения альдегидогенных липидов в правый боковой желудочек значительно снижает повышенный уровень Аβ в мозге у 14-месячных животных и у мышей с ранней стадией БА. Однако у старых 24-месячных мышей плазмалогены не оказывают влияния на клиренс Аβ. Использование альдегидогенных липидов для лечения нейродегенеративных и возрастных заболеваний мозга является новым направлением [3; 16; 22; 28; 29; 31; 35; 37; 40]. Поэтому, несмотря на многообещающие результаты [3; 11; 20; 21; 28; 36], остается малоизученным то, какой тип альдегидогенных липидов наиболее эффективен, в каких дозах, какой должна быть продолжительность терапии, у каких испытуемых терапия эффективна, а у каких нет, и какой способ введения плазмалогенов даёт наиболее выраженный терапевтический эффект. В данном эксперименте альдегидогенные липиды вводили в желудочки мозга. Это ограничивает возможность ответить на вопросы о том, будут ли достигнуты те же эффекты при использовании *per os* или внутривенно и проходят ли плазмалогены через гематоэнцефалический барьер. С помощью лазерной сканирующей микроскопии дальнейшие исследования, способные ответить на эти вопросы, позволят добиться значительного прогресса в разработке перспективной терапии заболеваний мозга с использованием альдегидогенных липидов, а также лучше понять механизмы, лежащие в основе улучшения клиренса Аβ и когнитивных функций, связанного с применением их в животных моделях.

Совет по институциональному надзору. 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, 18.04.2023).

Список литературы

1. Ahlemeyer, B. Endogenous Murine Amyloid- β Peptide Assembles into Aggregates in the Aged C57BL/6J Mouse Suggesting These Animals as a Model to Study Pathogenesis of Amyloid- β Plaque Formation / B. Ahlemeyer, S. Halupczok, E. Rodenberg-Frank, K. P. Valerius, E. Baumgart-Vogt // J Alzheimers Dis. — 2018. Vol. 61 (4). — P. 1425–1450. doi: 10.3233/JAD-170923.
2. Almeida, Z. L. Morphological and Molecular Profiling of Amyloid- β Species in Alzheimer's Pathogenesis / Z. L. Almeida, D. C. Vaz, R. M. M. Brito // Mol. Neurobiol. — 2024 Oct 24. — doi: 10.1007/s12035-024-04543-4.
3. Alzheimer's disease facts and figures // Alzheimers Dement. 2023. — Vol. 20 (5). — P. 1598–1695. — doi: 10.1002/alz.13016.
4. An, J. Early onset diagnosis in Alzheimer's disease patients via amyloid- β oligomers-sensing probe in cerebrospinal fluid / J. An, K. Kim, H.J. Lim, H. Y. Kim, J. Shin, I. W. Park, I. Cho, H. Y. Kim, S. Kim, C. McLean, K. Y. Kyu Yeong Choi, Y. S. Kim, K. H. Lee, J. S. Kim // Nat Commun. — 2024. — Vol. 15. — P. 1004. — doi: 10.1038/s41467-024-44818-x.
5. Azad, A. K. Time-Dependent Analysis of Plasmalogens in the Hippocampus of an Alzheimer's Disease Mouse Model: A Role of Ethanolamine Plasmalogen / A. K. Azad, A. M. Sheikh, A. Haque, H. Osago, H. Sakai, A. Z. Shibly, S. Yano, M. Michikawa, S. Hossain, S. Tabassum, G. A. X. Zhou, Y. Zhang, A. Nagai // Brain Sci. — 2021. Vol. 11. — P. 1603. — doi: 10.3390/brainsci11121603.
6. Broadhurst, P. L. Determinants of emotionality in rat: I. Situational factors / P. L. Broadhurst // Br J Psychol. — 1957. — Vol. 48 (1). — P. 1–12. — doi: 10.1111/j.2044-8295.1957.tb00594.x.
7. Cai, W. Physiological Roles of β -amyloid in Regulating Synaptic Function: Implications for AD Pathophysiology / W. Cai, L. Li, S. Sang, X. Pan, C. Zhong // Neurosci Bull. — 2023 Aug. — Vol. 39 (8). — P. 1289–1308. — doi: 10.1007/s12264-022-00985-9.
8. Carrillo-Mora, P. Amyloid beta: Multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? / P. Carrillo-Mora, R. Luna, L. Colín-Barenque // Oxidative Med. Cell. Longev. — 2014. — Vol. 2014. — P. 795375 — doi: 10.1155/2014/795375.
9. Da Mesquita, S. Meningeal lymphatics affect microglia responses and anti-A β immunotherapy / S. Da Mesquita, Z. Papadopoulos, T. Dykstra, L. Bräse, F. G. Farias, M. Wall, H. Jiang, C. D. Kodira, K. A. de Lima, J. Herz, A. Louveau, D. H. Goldman, A. F. Salvador, S. Onengut-Gumuscu, E. Farber, N. Dabhi, T. Kennedy, M. G. Milam, W. Baker, I. Smirnov, S. S. Rich // Nature. — 2021. — Vol. 593 (7858). — P. 255–260. — doi: 10.1038/s41586-021-03489-0.
10. Devos, S. L. Direct intraventricular delivery of drugs to the rodent central nervous system / S. L. Devos, T. M. Miller // J Vis Exp. — 2013. — Vol. 75. — e50326. — doi: 10.3791/50326.
11. Dorninger, F. From Peroxisomal Disorders to Common Neurodegenerative Diseases — the Role of Ether Phospholipids in the Nervous System / F. Dorninger, S. Forss-Petter, J. Berger // FEBS Lett. — 2017. — Vol. 591 (18). — P. 2761–2788. — doi: 10.1002/1873-3468.12788.
12. Espay, A. Lecanemab and Donanemab as Therapies for Alzheimer's Disease: An Illustrated Perspective on the Data / A. Espay, K. Kepp, K. Herrup // eNeuro. — 2024. — Vol. 11. — doi: 10.1523/ENEURO.0319-23.2024.
13. Facchinetto, R. An Animal Model of Alzheimer Disease Based on the Intrahippocampal Injection of Amyloid β -Peptide / R. Facchinetto, M. R. Bronzuoli, C. Scuderi //

Methods Mol Biol. — 2018. — Vol. 1727. — P. 343–352. — doi: 10.1007/978-1-4939-7571-6_25.

14. Ginsberg, L. Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzheimer's disease brain / L. Ginsberg, S. Rafique, J. H. Xuereb, S. I. Rapoport, N. L. Gershfeld // Brain Res. — 1995. — Vol. 698. — P. 223–226. — doi: 10.1016/0006-8993(95)00931-f.

15. Gouras, G. K. Intraneuronal Abeta accumulation and origin of plaques in Alzheimer's disease / G. K. Gouras, C. G. Almeida, R. H. Takahashi // Neurobiol Aging. — 2005. — Vol. 26 (9). — P. 1235–1244. — doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2005.05.022.

16. Gu, J. Plasmalogens Eliminate Aging-Associated Synaptic Defects and Microglia-Mediated Neuroinflammation in Mice / J. Gu, L. Chen, R. Sun, J.-L. Wang, J. Wang, Y. Lin, S. Lei, Y. Zhang, D. Lv, F. Jiang, Y. Deng, J. P. Collman, L. Fu // Front. Mol. Biosci. — 2022. — Vol. 9. — P. 815320. — doi: 10.3389/fmolb.2022.815320.

17. Haass, C. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism / C. Haass, M. G. Schlossmacher, A. Y. Hung, C. Vigo-Pelfrey, A. Mellon, B. L. Ostaszewski, I. Lieberburg, E. H. Koo, D. Schenk, D. B. Teplow, D. J. Selkoe // Nature. — 1992. — Vol. 359. — P. 322–325. — doi: 10.1038/359322a0.

18. Hascup, K. N. Altered neurotransmission prior to cognitive decline in AbetaPP/PS1 mice, a model of Alzheimer's disease / K. N. Hascup, E. R. Hascup // J Alzheimers Dis. — 2015. — Vol. 44 (3). — P. 771–776. — doi: 10.3233/JAD-142160.

19. Hossain, M. S. Plasmalogens rescue neuronal cell death through an activation of AKT and ERK survival signaling / M. S. Hossain, M. Ifuku, S. Take, J. Kawamura, K. Miake, T. Katafuchi // PLoS One. — 2013. — Vol. 8 (12). — P. 83508. — doi: 10.1371/journal.pone.0083508.

20. Hossain, M. S. Plasmalogens inhibit neuroinflammation and promote cognitive function / M. S. Hossain, S. Mawatari, T. Fujino // Brain Res Bull. — 2023. — Vol. 192. — P. 56–61. — doi: 10.1016/j.brainresbull.2022.11.005.

21. Howard, R. Questions EMERGE as Biogen claims aducanumab turnaround. / R. Howard, K. Y. Liu // Nat. Rev. Neurol. — 2020. — Vol. 16. — P. 63–64. — doi: 10.1038/s41582-019-0295-9.

22. Jonsson, T. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline / T. Jonsson, J. K. Atwal, S. Steinberg, J. Snaedal, P. V. Jonsson, S. Bjornsson, H. Stefansson, P. Sulem, D. Gudbjartsson, J. Maloney, K. Hoyte, A. Gustafson, Y. Liu, Y. Lu, T. Bhangale, R. R. Graham, J. Huttenlocher, G. Bjornsdottir, O. A. Andreassen, E. G. Jonsson, A. Palotie, T. W. Behrens, O. T. Magnusson, A. Kong, U. Thorsteinsdottir, R. J. Watts, K. Stefansson // Nature. — 2012. — Vol. 488. — P. 96–99. — doi: 10.1038/nature11283.

23. Kraeuter, A. K. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice / A. K. Kraeuter, P. C. Guest, Z. Sarnyai // Methods Mol. Biol. — 2019. — Vol. 1916. — P. 105–111. — doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2_10.

24. Li, S. Energy matters: Presynaptic metabolism and the maintenance of synaptic transmission / S. Li, Z. H. Sheng // Nat. Rev. Neurosci. — 2021, Vol. 23. — P. 4–22. — doi: 10.1038/s41583-021-00535-8.

25. López-Toledano, M. A. Neurogenic effect of amyloid peptide in the development of neural stem cells / M. A. López-Toledano, M. L. Shelanski // J. Neurosci. — 2004. — Vol. 24. — P. 5439–5444. — doi: 10.1523/JNEUROSCI.0974-04.2004.

26. Ma, C. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions / C. Ma, F. Hong, S. Yang // Molecules. — 2022. — Vol. 27 (4). — P. 1210. — doi: 10.3390/molecules27041210.

27. Masi, M. The Labyrinthine Landscape of APP Processing: State of the Art and Possible Novel Soluble APP-Related Molecular Players in Traumatic Brain Injury and

Neurodegeneration / M. Masi, F. Biundo, A. Fiou, M. Racchi, A. Pascale, E. Buoso // Int. J. Mol. Sci. — 2023. — Vol. 24. — P. 6639. — doi: 10.3390/ijms24076639.

28. Mattsson-Carlgren, N. A β deposition is associated with increases in soluble and phosphorylated tau that precede a positive Tau PET in Alzheimer's disease / N. Mattsson-Carlgren, E. Andersson, S. Janelidze, R. Ossenkoppele, P. Insel, O. Strandberg, H. Zetterberg, H. J. Rosen, G. Rabinovici, X. Chai, K. Blennow, J. L. Dage, E. Stomrud, R. Smith, S. Palmqvist, O. Hansson // Sci. Adv. — 2020. — Vol. 6 (16). — eaaz 2387. — doi: 10.1126/sciadv.aaz2387.

29. Milton, N. SARS-CoV-2 amyloid, is COVID-19-exacerbated dementia an amyloid disorder in the making? / Milton N. // Front. Dement. — 2023. — Vol. 2. — P. 1233340. — doi: 10.3389/frdem.2023.1233340.

30. Naslund, J. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline / J. Naslund, V. Haroutunian, R. Mohs, K. L. Davis, P. Davies, P. Greengard, J. D. Buxbaum // JAMA. — 2000. — Vol. 283. — P. 1571–1577. — doi: 10.1001/jama.283.12.1571.

31. Navolokin, N. Promising Strategies to Reduce the SARS-CoV-2 Amyloid Deposition in the Brain and Prevent COVID-19-Exacerbated Dementia and Alzheimer's Disease / N. Navolokin, V. Adushkina, D. Zlatogorskaya, V. Telnova, A. Evsiukova, E. Vodovozova, A. Eroshova, E. Dosadina, S. Diduk, O. Semyachkina-Glushkovskaya // Pharmaceuticals. — 2024. — Vol. 17. — P. 788. — doi: 10.3390/ph17060788.

32. O'brien, R. J. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease / R. J. O'brien, P. C. Wong // Annu. Rev. Neurosci. — 2011. — Vol. 34. — P. 185. — doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113613.

33. Paul, S. Plasmalogens: A potential therapeutic target for neurodegenerative and cardiometabolic disease / S. Paul, G. I. Lancaster, P. J. Meikle // Prog Lipid Res. — 2019. — P. 186–195. — doi: 10.1016/j.plipres.2019.04.003.

34. Plant, L. D., The production of amyloid peptide is a critical requirement for the viability of central neurons / L. D. Plant, J. P. Boyle, I. F. Smith, C. Peers, H. A. Pearson // J. Neurosci. — 2003. — Vol. 23. — P. 5531–5535. — doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-13-05531.2003.

35. Rahman, M. R. The NeuropathologicalImpacts of COVID-19: Challenges and Alternative Treatment Options for Alzheimer's Like Brain Changes on Severely SARS-CoV-2 Infected Patients / M. R. Rahman, R. Akter, S. Neelotpol, I. I. Mayesha, A. Afrose // Am. J. Alzheimers. Dis. Other Demen. — 2023. — Vol. 38. — 15333175231214974. — doi: 10.1177/15333175231214974.

36. Rothhaar, T. L. Plasmalogens inhibit APP processing by directly affecting γ -secretase activity in Alzheimer's disease / T. L. Rothhaar, S. Grösgen, V. J. Haupenthal, V. K. Burg, B. Hundsdörfer, J. Mett, M. Riemenschneider, H. S. Grimm, T. Hartmann, M. O. Grimm // Scientific World J. — 2012. — Vol. 2012. — P. 141240. — doi: 10.1100/2012/141240.

37. Rudnicka-Drozak, E. Links between COVID-19 and Alzheimer's Disease — What Do We Already Know? / E. Rudnicka-Drozak, P. Drozak, G. Mizerski, T. Zaborowski, B. S'lusarska, G. Nowicki, M. Drozak // Int. J. Environ. Res. Public Health. — 2023. — Vol. 20. — P. 2146. — doi: 10.3390/ijerph20032146.

38. Salloway, S. Amyloid-Related Imaging Abnormalities in 2 Phase 3 Studies Evaluating Aducanumab in Patients with Early Alzheimer Disease / S. Salloway, S. Chalkias, F. Barkhof, P. Burkett, J. Barakos, D. Purcell, J. Suhy, F. Forrestal, Y. Tian, K. Umans, G. Wang, S. B. Haeberlein, K. Karen Smirnakis // JAMA Neurol. — 2022. — Vol. 79. — P. 13–21. — doi: 10.1001/jamaneurol.2021.4161.

39. Su, X. Q. Plasmalogens and Alzheimer's disease: a review / X. Q. Su; J. Wang, A. J. Sinclair // *Lipids Health Dis.* — 2019. — Vol. 18 (1). — P. 100. — doi: 10.1186/s12944-019-1044-1.
40. Takamori, S. Molecular Anatomy of a Trafficking Organelle / S. Takamori, M. Holt, K. Stenius, E. A. Lemke, M. Grønborg, D. Riedel, H. Urlaub, S. Schenck, B. Brügger, P. Ringler, S. A. Müller, B. Rammner, F. Gräter, J. S. Hub, B. L. De Groot, G. Mieskes, Y. Moriyama, J. Klingauf, H. Grubmüller, J. Heuser, F. Wieland, R. Jahn // *Cell.* — 2006. — Vol. 127 (4). — P. 831–846. — doi: 10.1016/j.cell.2006.10.030.
41. Udagawa, J. Plasmalogen in the brain: Effects on cognitive functions and behaviors attributable to its properties / J. Udagawa, K. Hino // *Brain Res. Bull.* — 2022. — Vol. 188. — P. 197–202. — doi: 10.1016/j.brainresbull.2022.08.008.
42. Wertkin, A. M. Human neurons derived from a teratocarcinoma cell line express solely the 695-amino acid amyloid precursor protein and produce intracellular beta-amyloid or A4 peptides / A. M. Wertkin, R. S. Turner, S. J. Pleasure, T. E. Golde, S. G. Younkin, J. Q. Trojanowski, V. M. Lee // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1993. — Vol. 90. — P. 9513–9517. — doi: 10.1073/pnas.90.20.9513.
43. West, A. How Do Ethanolamine Plasmalogens Contribute to Order and Structure of Neurological Membranes? / A. West, V. Zoni, W. E. Teague Jr., A. N. Leonard, S. Vanni, K. Gawrisch, S. Tristram-Nagle, J. N. Sachs, J. B. Klauda // *J. Phys. Chem. B.* — 2020. — Vol. 124. — P. 828–839. — doi: 10.1021/acs.jpcb.9b08850.
44. Yamashita, S. Preparation of marine plasmalogen and selective identification of molecular species by LC-MS/MS / S. Yamashita, A. Honjo, M. Aruga, K. Nakagawa, T. Miyazawa // *J. Oleo. Sci.* — 2014. — Vol. 63 (5). — P. 423–430. — doi: 10.5650/jos.ess13188.
45. Yamashita, S. Marine Plasmalogens: A Gift from the Sea with Benefits for Age-Associated Diseases / S. Yamashita, T. Miyazawa, O. Higuchi, M. Kinoshita, T. Miyazawa // *Molecules.* — 2023. — Vol. 28. — P. 6328. — doi: 10.3390/molecules28176328.
46. Zhang, Y. Amyloid β -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future / Y. Zhang, H. Chen, R. Li, K. Sterling, W. Song // *Sig. Transduct. Target Ther.* — 2023. — Vol. 8. — P. 248. — doi: 10.1038/s41392-023-01484-7.

References

1. Ahlemeyer, B., Halupczok, S., Rodenberg-Frank, E., Valerius, K. P., Baumgart-Vogt, E. Endogenous Murine Amyloid- β Peptide Assembles into Aggregates in the Aged C57BL/6J Mouse Suggesting These Animals as a Model to Study Pathogenesis of Amyloid- β Plaque Formation. *J Alzheimers Dis.* 2018;61(4):1425–1450. doi: 10.3233/JAD-170923.
2. Almeida, Z. L., Vaz, D. C., Brito, R. M. M. Morphological and Molecular Profiling of Amyloid- β Species in Alzheimer's Pathogenesis. *Mol. Neurobiol.* 2024Oct24. doi: 10.1007/s12035-024-04543-4.
3. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2023;20(5):1598–1695. doi: 10.1002/alz.13016.
4. An, J., Kim, K., Lim, H. J. Kim, H. Y., Shin, J., Park, I. W., Cho, I., Kim, H. Y., Kim, S., McLean, C., Kyu Yeong Choi, K. Y., Kim, Y. S., Lee, K. H., Kim, J. S. Early onset diagnosis in Alzheimer's disease patients via amyloid- β oligomers-sensing probe in cerebrospinal fluid. *Nat Commun.* 2024;15:1004. doi: 10.1038/s41467-024-44818-x.
5. Azad, A. K., Sheikh, A. M., Haque, A., Osago, H., Sakai, H., Shibly, A. Z., Yano, S., Michikawa, M., Hossain, S., Tabassum, S., A, G., Zhou, X., Zhang, Y., Nagai, A. Time-Dependent Analysis of Plasmalogens in the Hippocampus of an Alzheimer's Disease Mouse Model: A Role of Ethanolamine Plasmalogen. *Brain Sci.* 2021;11:1603. doi: 10.3390/brainsci11121603.

6. Broadhurst, P. L. Determinants of emotionality in rat: I. Situational factors. *Br. J Psychol.* 1957;48(1):1–12. doi: 10.1111/j.2044-8295.1957.tb00594.x.
7. Cai, W., Li, L., Sang, S., Pan, X., Zhong, C. Physiological Roles of β -amyloid in Regulating Synaptic Function: Implications for AD Pathophysiology. *Neurosci. Bull.* 2023Aug;39(8):1289–1308. doi: 10.1007/s12264-022-00985-9.
8. Carrillo-Mora, P., Luna, R., Colín-Barenque, L. Amyloid beta: Multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects? *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2014;2014:795375. doi: 10.1155/2014/795375.
9. Da Mesquita, S., Papadopoulos, Z., Dykstra, T., Brase, L., Farias, F. G., Wall, M., Jiang, H., Kodira, C. D., Lima, K. A. de, Herz, J., Louveau, A., Goldman, D. H., Salvador, A. F., Onengut-Gumuscu, S., Farber, E., Dabhi, N., Kennedy, T., Milam, M. G., Baker, W., Smirnov, I., Rich, S. S. Meningeal lymphatics affect microglia responses and anti- $\text{A}\beta$ immunotherapy. *Nature.* 2021;593(7858):255–260. doi: 10.1038/s41586-021-03489-0.
10. Devos, S. L., Miller, T. M. Direct intraventricular delivery of drugs to the rodent central nervous system. *J. Vis. Exp.* 2013;75:e50326. doi: 10.3791/50326.
11. Dorninger, F., Forss-Petter, S., Berger, J. From Peroxisomal Disorders to Common Neurodegenerative Diseases — the Role of Ether Phospholipids in the Nervous System. *FEBS Lett.* 2017;591(18):2761–2788. doi: 10.1002/1873-3468.12788.
12. Espay, A., Kepp, K., Herrup, K. Lecanemab and Donanemab as Therapies for Alzheimer's Disease: An Illustrated Perspective on the Data. *eNeuro.* 2024;11. doi: 10.1523/ENEURO.0319-23.2024.
13. Facchetti, R., Bronzuoli, M. R., Scuderi, C.;An Animal Model of Alzheimer Disease Based on the Intrahippocampal Injection of Amyloid β -Peptide. *Methods Mol. Biol.* 2018;1727:343–352. doi: 10.1007/978-1-4939-7571-6_25.
14. Ginsberg, L., Rafique, S., Xuereb, J. H., Rapoport, S. I., Gershfeld, N. L. Disease and anatomic specificity of ethanolamine plasmalogen deficiency in Alzheimer's disease brain. *Brain Res.* 1995;698:223–226. doi: 10.1016/0006-8993(95)00931-f.
15. Gouras, G. K., Almeida, C. G., Takahashi, R. H. Intraneuronal $\text{A}\beta$ accumulation and origin of plaques in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging.* 2005;26:1235–1244. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2005.05.022.
16. Gu, J., Chen, L., Sun, R., Wang, J.-L., Wang, J., Lin, Y., Lei, S., Zhang, Y., Lv, D., Jiang, F., Deng, Y., Collman, J. P., Fu L. Plasmalogens Eliminate Aging-Associated Synaptic Defects and Microglia-Mediated Neuroinflammation in Mice. *Front. Mol. Biosci.* 2022;9:815320. doi: 10.3389/fmolsb.2022.815320.
17. Haass, C., Schlossmacher, M. G., Hung, A. Y., Vigo-Pelfrey, C., Mellon, A., Ostaszewski, B. L., Lieberburg, I., Koo, E. H., Schenk, D., Teplow, D. B., Selkoe, D. J. Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature.* 1992;359:322–325. doi: 10.1038/359322a0.
18. Hascup, K. N., Hascup, E. R. Altered neurotransmission prior to cognitive decline in AbetaPP/PS1 mice, a model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2015;44(3):771–776. doi: 10.3233/JAD-142160.
19. Hossain, M. S., Ifuku, M., Take, S., Kawamura, J., Miake, K., Katafuchi, T. Plasmalogens rescue neuronal cell death through an activation of AKT and ERK survival signaling. *PLoS One.* 2013;8(12):83508. doi: 10.1371/journal.pone.0083508.
20. Hossain, M. S., Mawatari, S., Fujino, T. Plasmalogens inhibit neuroinflammation and promote cognitive function. *Brain Res. Bull.* 2023;192:56–61. doi: 10.1016/j.brainresbull.2022.11.005.
21. Howard, R., Liu, K. Y. Questions EMERGE as Biogen claims aducanumab turnaround. *Nat. Rev. Neurol.* 2020;16:63–64. doi: 10.1038/s41582-019-0295-9.
22. Jonsson, T., Atwal, J. K., Steinberg, S., Snaedal, J., Jonsson, P. V., Bjornsson, S., Stefansson, H., Sulem, P., Gudbjartsson, D., Maloney, J., Hoyte, K., Gustafson, A., Liu, Y.,

- Lu, Y., Bhangale, T., Graham, R. R., Huttenlocher, J., Bjornsdottir, G., Andreassen, O. A., Jonsson, E. G., Palotie, A., Behrens, T. W., Magnusson, O. T., Kong, A., Thorsteinsdottir, U., Watts, R. J., Stefansson, K. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*. 2012;488:96–99. doi: 10.1038/nature11283.
23. Kraeuter, A. K., Guest, P. C., Sarnyai, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. *Methods Mol. Biol.* 2019;1916:105–111. doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2_10.
24. Li, S., Sheng, Z. H. Energy matters: Presynaptic metabolism and the maintenance of synaptic transmission. *Nat. Rev. Neurosci.* 2021;23:4–22. doi: 10.1038/s41583-021-00535-8.
25. López-Toledano, M. A., Shelanski, M. L. Neurogenic effect of amyloid peptide in the development of neural stem cells. *J. Neurosci.* 2004;24:5439–5444. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0974-04.2004.
26. Ma, C., Hong, F., Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. *Molecules*. 2022;27(4):1210. doi: 10.3390/molecules27041210.
27. Masi, M., Biundo, F., Fiou, A., Racchi, M., Pascale, A., Buoso, E. The Labyrinthine Landscape of APP Processing: State of the Art and Possible Novel Soluble APP-Related Molecular Players in Traumatic Brain Injury and Neurodegeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24:6639. doi: 10.3390/ijms24076639.
28. Mattsson-Carlgren, N., Andersson, E., Janelidze, S., Ossenkoppele, R., Insel, P., Strandberg, O., Zetterberg, H., Rosen, H. J., Rabinovici, G., Chai, X., Blennow, K., Dage, J. L., Stomrud, E., Smith, R., Palmqvist, S., Hansson, O. A β deposition is associated with increases in soluble and phosphorylated tau that precede a positive Tau PET in Alzheimer's disease. *Sci. Adv.* 2020;6:eaaz2387. doi: 10.1126/sciadv.aaz2387.
29. Milton, N. SARS-CoV-2 amyloid, is COVID-19-exacerbated dementia an amyloid disorder in the making? *Front. Dement.* 2023;2:1233340. doi: 10.3389/frdem.2023.1233340.
30. Naslund, J., Haroutunian, V., Mohs, R., Davis, K. L., Davies, P., Greengard, P., Buxbaum, J. D. Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. *JAMA*. 2000;283:1571–1577. doi: 10.1001/jama.283.12.1571.
31. Navolokin, N., Adushkina, V., Zlatogorskaya, D., Telnova, V., Esviukova, A., Vodovozova, E., Eroshova, A., Dosadina, E., Diduk, S., Semyachkina-Glushkovskaya, O. Promising Strategies to Reduce the SARS-CoV-2 Amyloid Deposition in the Brain and Prevent COVID-19-Exacerbated Dementia and Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals*. 2024;17:788. doi: 10.3390/ph17060788.
32. O'brien, R. J., Wong, P.C . Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Neurosci.* 2011;34:185. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113613.
33. Paul, S., Lancaster, G. I., Meikle, P. J. Plasmalogens: A potential therapeutic target for neurodegenerative and cardiometabolic disease. *Prog. Lipid. Res.* 2019:186–195. doi: 10.1016/j.plipres.2019.04.003.
34. Plant, L. D., Boyle, J. P., Smith, I. F., Peers, C., Pearson, H. A. The production of amyloid peptide is a critical requirement for the viability of central neurons. *J. Neurosci.* 2003;23:5531–5535. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-13-05531.2003.
35. Rahman, M. R., Akter, R., Neelotpol, S., Mayesha, I. I., Afrose, A. The NeuropathologicalImpacts of COVID-19: Challenges and Alternative Treatment Options for Alzheimer's Like Brain Changes on Severely SARS-CoV-2 Infected Patients. *Am. J Alzheimers Dis. Other. Demen.* 2023;38:15333175231214974. doi: 10.1177/15333175231214974.
36. Rothhaar, T. L., Grösgen, S., Haupenthal, V. J., Burg, V. K., Hundsdörfer, B., Mett, J., Riemschneider, M., Grimm, H. S., Hartmann, T., Grimm, M. O. Plasmalogens inhibit APP processing by directly affecting γ -secretase activity in Alzheimer's disease. *Scientific World J.* 2012;2012:141240. doi: 10.1100/2012/141240.

37. Rudnicka-Drozak, E., Drozak, P., Mizerski, G., Zaborowski, T., S'lusarska, B., Nowicki G., Drozak, M. Links between COVID-19 and Alzheimer's Disease – What Do We Already Know? *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2023;20:2146. doi: 10.3390/ijerph20032146.
38. Salloway, S., Chalkias, S., Barkhof, F., Burkett, P., Barakos, J., Purcell, D., Suhy, J., Forrestal, F., Tian, Y., Umans, K., Wang, G., Haeberlein, S. B., Karen Smirnakis, K. Amyloid-Related Imaging Abnormalities in 2 Phase 3 Studies Evaluating Aducanumab in Patients with Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurol.* 2022;79:13–21. doi: 10.1001/jamaneurol.2021.4161.
39. Su, X. Q., Wang, J., Sinclair, A. J. Plasmalogens and Alzheimer's disease: a review. *Lipids Health Dis.* 2019;18(1):100. doi: 10.1186/s12944-019-1044-1.
40. Takamori, S., Holt, M., Stenius, K., Lemke, E. A., Grønborg, M., Riedel, D., Urlaub, H., Schenck, S., Brügger, B., Ringler, P., Müller, S. A., Rammner, B., Gräter, F., Hub, J. S., Groot, B. L. De, Mieskes, G., Moriyama, Y., Klingauf, J., Grubmüller, H., Heuser, J., Wieland, F., Jahn, R. Molecular Anatomy of a Trafficking Organelle. *Cell.* 2006;127(4):831–846. doi: 10.1016/j.cell.2006.10.030.
41. Udagawa, J., Hino, K. Plasmalogen in the brain: Effects on cognitive functions and behaviors attributable to its properties. *Brain. Res. Bull.* 2022;188:197–202. doi: 10.1016/j.brainresbull.2022.08.008.
42. Wertkin, A. M., Turner, R. S., Pleasure, S. J., Golde, T. E., Younkin, S. G., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M. Human neurons derived from a teratocarcinoma cell line express solely the 695-amino acid amyloid precursor protein and produce intracellular beta-amyloid or A4 peptides. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1993;90:9513–9517. doi: 10.1073/pnas.90.20.9513.
43. West, A., Zoni, V., Teague, W. E. Jr., Leonard, A. N., Vanni, S., Gawrisch, K., Tristram-Nagle, S., Sachs, J. N., Klauda, J. B. How Do Ethanolamine Plasmalogens Contribute to Order and Structure of Neurological Membranes? *J. Phys. Chem.B.* 2020;124:828–839. doi: 10.1021/acs.jpcb.9b08850.
44. Yamashita, S., Honjo, A., Aruga, M., Nakagawa, K., Miyazawa, T. Preparation of marine plasmalogen and selective identification of molecular species by LC-MS/MS. *J. Oleo Sci.* 2014;63(5):423–430. doi: 10.5650/jos.ess13188.
45. Yamashita, S., Miyazawa, T., Higuchi, O., Kinoshita, M., Miyazawa, T. Marine Plasmalogens: A Gift from the Sea with Benefits for Age-Associated Diseases. *Molecules.* 2023;28:6328. doi: 10.3390/molecules28176328.
46. Zhang, Y., Chen, H., Li, R., Sterling, K., Song, W. Amyloid β -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future. *Sig Transduct Target Ther.* 2023;8:248. doi: 10.1038/s41392-023-01484-7.

Информация об авторах

Семячкина-Глушкивская О. В. — доктор биологических наук, доцент;

Саранцева Е. И. — кандидат биологических наук, доцент;

Искра Т. Д. — кандидат биологических наук, доцент.

Information about authors

Semyachkina-Glushkovskaya O. V. — Doctor of Biological Sciences, Associate Professor;

Saranceva E. I. — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor;

Iskra T. D. — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в публикации;

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors

All authors have made equivalent contributions to publications;
The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 10.11.2025; одобрена после рецензирования 24.11.2025; принята к публикации 15.12.2025.

The article was submitted 10.11.2025; approved after reviewing 24.11.2025; accepted for publication 15.12.2025.