



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 615.07:543.544: 519.876

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12243

Влияние ресвератрола на сорбцию фосфорилированного tau-белка и MART на PVDF-мембрану в мышинной модели болезни Альцгеймера

Екатерина Владимировна Чернышова¹, Екатерина Павловна Крутских¹,
Полина Ивановна Бабенкова¹, Вероника Витальевна Нестерова¹,
Ирина Борисовна Певзнер², Егор Юрьевич Плотников²,
Артем Петрович Гуреев^{1,3}✉

¹Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия, gureev@bio.vsu.ru✉

²НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

³Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

Аннотация. Болезнь Альцгеймера – это комплексное нейродегенеративное заболевание, в основе которого лежат различные процессы, связанные с накоплением и агрегацией дефектных белков. Среди них особое значение имеют амилоид- β , образующийся при расщеплении белка-предшественника амилоида, скопление внутри нейронов гиперфосфорилированных белков tau, образующих нейрофибрилярные клубки, а также aberrantная агрегация и образование включений связанного с микротрубочками белка tau (MART). Трансгенные мыши линии APP/PS1 являются моделью болезни Альцгеймера и экспрессируют мутантные человеческие гены, способствующие накоплению пептидов амилоида- β в мозге. Целью данной работы являлась количественная оценка уровня p-tau231 с использованием сорбционного метода в мозге трансгенных мышей с моделью БА. Также к задачам исследования относилась проверка способности природного полифенола ресвератрола снижать концентрацию p-tau231 в мозге трансгенных мышей и улучшить когнитивные функции. Широко распространенным методом иммунного обнаружения и количественного определения белков *in vitro* является вестерн-блоттинг. Вестерн-блоттинг позволяет разделить белки в зависимости от их молекулярной массы с последующим переносом на адсорбционную мембрану. При этом перенос белков из геля на мембрану PVDF осуществляется с помощью электрофоретической элюции. Этот метод включает помещение белоксодержащего полиакриламидного геля в непосредственный контакт с мембраной PVDF, которая представляет собой линейный полимер с повторяющимися звеньями $-(CF_2-CH_2)-$. Белки, перенесенные на мембрану, хорошо удерживаются на ее поверхности на протяжении всего процесса иммунодетекции за счет сочетания дипольных и гидрофобных взаимодействий. Вестерн-блоттинг показывает, что в мозге у мышей с нарушенной агрегацией белков накапливается значительно больше MART и фосфорилированного tau-белка, чем у мышей дикого типа. К тому же, в тесте водного лабиринта Морриса у данных мышей наблюдались когнитивные дефициты, которые проявлялись как в затруднении поиска платформы, так и в более тревожном поведении, что подчеркивает ярко выраженный тигмотаксис. Природный полифенол ресвератрол частично нивелировал когнитивные дефициты, хотя данный эффект не был связан со снижением уровня фосфорилированного tau и MART.

Ключевые слова: вестерн-блоттинг, сорбционная мембрана, tau-белок, болезнь Альцгеймера, ресвератрол.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-74-00115.

Для цитирования: Чернышова Е.В., Крутских Е.П., Бабенкова П.И., Нестерова В.В., Певзнер И.Б., Плотников Е.Ю., Гуреев А.П. Влияние ресвератрола на сорбцию фосфорилированного TAU-белка и MART на PVDF-мембрану в мышинной модели болезни Альцгеймера // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2024. Т. 24, № 3. С. 415-425. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12243>

Original article

Influence of resveratrol on the sorption of phosphorylated tau protein and MAPT on the PVDF membrane in a mouse model of Alzheimer's disease

**Ekaterina V. Chernyshova¹, Ekaterina P. Krutskikh¹, Polina I. Babenkova¹,
Veronika V. Nesterova¹, Irina B. Pevzner², Egor Yu. Plotnikov², Artem P. Gureev^{1,3}**

¹Voronezh State University, Voronezh, Russia, gureev@bio.vsu.ru

²A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Moscow, Russia

³Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia

Abstract. Alzheimer's disease is a complex neurodegenerative disease based on various processes associated with the accumulation and aggregation of defective proteins. Among them, the particularly important ones are the following: amyloid- β , which is formed by the breakdown of amyloid precursor protein, the accumulation of hyperphosphorylated tau proteins inside neurons that form neurofibrillary tangles, and aberrant aggregation and inclusion formation of microtubule-associated protein tau (MAPT). APP/PS1 transgenic mice act as a model of Alzheimer's disease and express mutant human genes that cause the accumulation of amyloid- β peptides in the brain. The goal of this work was a quantitative assessment of the level of p-tau231 in the brain of transgenic mice with a model of AD using the sorption method. The objectives of the study also included testing the ability of the natural polyphenol resveratrol to reduce the concentration of p-tau231 in the brain of transgenic mice and improve their cognitive functions. Western blot is a widely used method for the immunodetection and in vitro quantitative determination of proteins.

Western blot allows separating proteins based on their molecular weight with the further transfer to an adsorption membrane. In this case, the proteins are transferred from the gel to the PVDF membrane using electrophoretic elution. This method involves placing a protein-containing polyacrylamide gel in direct contact with a PVDF membrane represented by a linear polymer with repetitive links $-(CF_2-CH_2)-$. Proteins transferred to the membrane are well-retained on its surface during the whole immunodetection process due to a combination of dipole and hydrophobic interactions. Western blot showed that mice with impaired protein aggregation accumulated significantly more MAPT and phosphorylated tau protein in the brain as compared to wild mice. In addition, in the course of the Morris water maze test, these mice showed cognitive deficits, which manifested both in the difficulty of finding the platform and more anxious behaviour, which confirmed pronounced thigmotaxis. The natural polyphenol resveratrol partially reversed cognitive deficits, although this effect was not associated with decreased levels of phosphorylated tau and MAPT.

Keywords: Western blot, adsorption membrane, Tau protein, Alzheimer's disease, resveratrol.

Acknowledgements: the reported study was supported by the Russian Science Foundation, project No. 22-74-00115.

For citation: Chernyshova E.V., Krutskikh E.P., Babenkova P.I., Nesterova V.V., Pevzner I.B., Plotnikov E.Yu., Gureev A.P. Influence of resveratrol on the sorption of phosphorylated tau protein and MAPT on the PVDF membrane in a mouse model of Alzheimer's disease. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(3): 415-425. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12243>

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой нейродегенеративное заболевание головного мозга, при котором происходит прогрессирующее разрушение нейронов и нарушение когнитивных функций, таких как память, речь и мышление. Прогрессирование этих поражений головного мозга медленно, но необратимо снижает автономию человека [1]. Агрегация белков является общей чертой многих нейродегенеративных заболева-

ний, и предполагается, что процесс агрегации играет центральную роль в патогенезе [2]. В этом процессе мономер растворимого белка взаимодействует с другими мономерами того же белка, образуя димеры, олигомеры и полимеры. Агрегация часто сопровождается конформационными изменениями трехмерной структуры белка. БА патологически определяется внеклеточным накоплением пептидов амилоида- β ($A\beta$), образующихся при расщеплении белка-предшественника амилоида (APP) а также скоплением

внутри нейронов гиперфосфорилированных белков tau (p-tau), образующих нейрофибрилярные клубки (NFTs) [3]. Поэтому для определения патологии БА важно определить количество фосфорилированного белка. Для этого используют различные методы, среди них, например, масс-спектрометрия, иммуноферментные анализы, а также вестерн-блоттинг [4-6]. Вестерн-блоттинг при этом считается золотым стандартом для количественного определения фосфорилированных белков, в основе которого лежит анализ количества белка, сорбированного на PVDF мембрану с использованием специфических антител [7].

Из всех различных посттрансляционных модификаций, которым может подвергаться белок tau, фосфорилирование представляет особый интерес из-за его участия в группе нейродегенеративных расстройств, известных как тауопатии [8, 9]. Фосфорилированный tau по треонину 231 (p-tau231) является одним из биомаркеров БА в спинномозговой жидкости и имеет высокую диагностическую точность. Рядом исследований установлено, что p-tau спинномозговой жидкости коррелирует с когнитивными нарушениями даже в большей степени, чем биомаркеры, связанные с A β [10-12]. Недавние клинические испытания потенциальных препаратов для лечения БА, направленных на снижение уровня A β , не привели к замедлению прогрессирования заболевания у пациентов с БА [13]; это дает основания полагать, что необходимо разработать альтернативную стратегию воздействия, которая может быть направлена на препятствие агрегации p-tau. В настоящее время ведется активная разработка препаратов, направленных на деагрегацию белков при БА [14]. Полифенольные растительные соединения рассматриваются как перспективные препараты для лечения БА, среди которых особый интерес вызывает ресвератрол [15].

Целью данной работы являлась количественная оценка уровня p-tau231 с использованием сорбционного метода в мозге трансгенных мышей с моделью БА. Также к задачам исследования относилась проверка способности природного полифенола ресвератрола снижать концентрацию p-tau231 в мозге трансгенных мышей и улучшить когнитивные функции.

Экспериментальная часть

Животные. Трансгенные мыши APP/PS1 (генотип B6C3-Tg(APP695)85Dbo Tg(PSEN1)85Dbo) были получены из Пущинского питомника лабораторных животных (Пущино, Россия). Животные содержались в контролируемых условиях: цикл 12 часов свет и 12 часов темноты, температура 25 °C, неограниченный доступ к воде и стандартная лабораторная диета (Ssniff-Spezialdiäten GmbH, Германия). Мыши APP/PS1, в возрасте 6 месяцев, были разделены на две группы. Первая группа (n=6) получала только воду, а вторая группа (n=7) мышей с питьевой водой получала ресвератрол (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 20 мг/кг/день. Предварительно нами было установлено, что в день каждая мышь весом примерно 20 г выпивает 4 см³ воды; для каждой мыши прием ресвератрола в дозе 20 мг/кг/день достигался разведением 100 мг ресвератрола в 1 дм³ воды, при котором одна мышь ежедневно в среднем получала 0.4 мг ресвератрола. Вода и корм были доступны *ad libitum*. Количество потребляемой воды и корма контролировали ежедневно в течение всего срока эксперимента. Концентрация 20 мг/кг/день была подобрана ранее и уже использовалась нами в предыдущих исследованиях на не трансгенных мышях [16]. Доказано, что данная концентрация ресвератрола не вызывает побочных эффектов, хорошо переносится и фармакологически безопасна в дозах до 5 г/день

[17]. В качестве контроля были задействованы мыши линии C57BL/6 ($n=7$), которые не получали никаких добавок. Прием препарата продолжался в течение 4 месяцев. По окончании этого периода был проведен тест водного лабиринта Морриса для оценки пространственной долговременной памяти, в котором участвовали все экспериментальные мыши. Далее мыши были умерщвлены согласно правилам этической комиссии Воронежского государственного университета. Головной мозг мышей извлекали и немедленно замораживали при температуре -80°C в низкотемпературном вертикальном морозильнике MDF-U3386S (SANYO, Япония) для последующих исследований белков. Для анализа использовались по 4 образца мозга с каждой экспериментальной группы.

Вестерн-блоттинг. Вестерн-блоттинг осуществлялся в нескольких этапах: пробоподготовка, электрофорез в полиакриламидном геле, перенос белков на сорбционную PVDF мембрану, нанесение первичных антител на сорбционную мембрану, нанесение вторичных антител, визуализация результатов. Использовали целое полушарие мозга мыши и гомогенизировали в фосфатном буфере в соотношении 1:100. Затем гомогенат центрифугировали 3 мин при 1000 g. После отбирали супернатант (65 мкл) и добавляли загрузочный буфер (0.756 г Трис, 1г SDS, 10 см³ глицина, 5 см³ меркаптоэтанол, 1 мг бромфенолового синего, pH 6.8 с HCl в 100 см³ раствора), таким образом, чтобы концентрация белка во всех пробах была одинаковой. Концентрацию белка в супернатанте определяли с помощью набора Thermo Scientific™ Pierce™ BCA Protein Assay Kits. Пробу смешивали с буфером в соотношении примерно 3:1 и кипятили в термостате 5 мин при 100°C , затем давали образцам остыть.

Разделение белков проводили с помощью вертикального электрофореза в полиакриламидном геле. Для этого приготавливали концентрирующий гель (1 см³

раствора акриламида-бисакриламида, 1 см³ буфера для концентрирующего геля (Трис-HCl, pH 6.8), 3 см³ воды, 24 мкл ТЕМЕД, 160 мкл персульфат аммония (ПСА)) и разделяющий гель (12.5%) (8.3 см³ раствора акриламида-бисакриламида, 5 см³ буфера для разделяющего геля (Трис-HCl, pH 8.8), 6.6 см³ воды, 24 мкл ТЕМЕД, 160 мкл ПСА). Для проведения электрофореза на прибор подавали электрический ток с напряжением 200 мВ, силой тока 12 мА.

Перенос образцов осуществляли на сорбционную мембрану PVDF (Immobilon®-P PVDF Membrane), которая представляет собой линейный полимер с повторяющимися звеньями $-(\text{CF}_2-\text{CH}_2)-$ [18]. Перед началом полусухого переноса мембрану активировали в метаноле в течение 1 мин, затем метанол сливали и заливали мембрану буфером для переноса (25 мМ TRIS, 190 мМ глицина, 10% метанола) на 15 мин. Собирали систему «сэндвич» и проводили перенос при напряжении 25 В и силе тока 0.5 А в течение 30 мин. После переноса сорбционную мембрану PVDF блокировали в 5% обезжиренном сухом молоке и 30 см³ буфера TBS с Tween в течение 30 мин. После переноса мембрану отмывали и заливали антителами разбавленными 1% BSA в 1X TBS с Tween. Использовались следующие антитела: mouse monoclonal anti-b-actin 1:2000 (#A2228, Sigma, США), MAP tau total Rb 1:1000 (#PA1-18272, Thermo, США), Tau [p205] Rb 1:1000 (#44738G, Invitrogen, США). PVDF мембрану с первичными антителами инкубировали в течение ночи при 4°C . В течение этого процесса антитела связывались с целевыми белками, перенесенными на мембрану. После инкубации мембрану отмывали 3 раза в течение 5 мин при 70 rpm. Затем инкубировали мембрану со вторичными антителами, которые были конъюгированы с пероксидазой хрена, в соотношении 1:5000 при

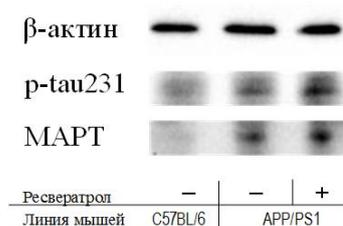


Рис. 1. Различия в концентрации сорбированных на мембране p-tau и MAPT у трансгенных мышей (APP/PS1) без лечения и при приеме ресвератрола в сравнении с мышами дикого типа (линия C57BL/6)

Fig. 1. Differences in the concentrations of p-tau and MAPT sorbed on the membrane in transgenic mice (APP/PS1) without treatment and with resveratrol treatment as compared to wild mice (line C57BL/6)

36-37°C в течение 60 мин. После инкубации мембрану отмывали 3 раза. Для проявления добавляли субстрат Clarity™ Western ECL для хемилюминесцентной детекции конъюгатов с пероксидазой хрена (HPR) согласно рекомендациям производителя и инкубировали в течение 5 мин. Регистрацию блотов проводили на приборе Molecular Imager® ChemiDoc™ XRS System (Bio-Rad, USA).

Тест водного лабиринта Морриса. Для оценки когнитивных способностей мышей был использован тест водного лабиринта Морриса, основанный на протоколе, разработанном Vorhees и Williams (2006) [19]. Лабиринт представлял собой бассейн, заполненный водой, который был разделен на четыре квадранта: северный (N), южный (S), восточный (E) и западный (W). Оценка пространственной долговременной памяти проводилась на 6-й день эксперимента после 5 дней обучения. Оценивалось, какое количество мышей добиралось до платформы, и какой при этом был характер поиска платформы.

Статистическая обработка. Данные представлены в виде медианных значений (Q1; Q3). Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ STATISTICA12. Сравнение между экспериментальными группами проводилось при помощи непараметрического критерия Крускала-Уоллиса, так как распределение данных отличалось от нормального.

Обсуждение результатов

Связь между накоплением A β и развитием БА может объясняться ускоренной сборкой агрегатов, что, в свою очередь, повреждает холинергические нейроны, приводит к чрезмерному накоплению и активации микроглии, вызывающей нейровоспаление. Это, в свою очередь, влияет на энергетический метаболизм, в котором ведущую роль играют митохондрии, что приводит к окислительному стрессу и аномальному фосфорилированию белка tau [20]. Ранее было показано, что p-tau231 накапливается на ранних стадиях развития патологии БА и является основным кандидатом для обнаружения начинающейся патологии A β [21]. По результатам вестерн-блоттинга было продемонстрировано, что первичные антитела специфичные к p-tau231 в большей степени сорбировались на PVDF мембране, на которую были перенесены разделенные с помощью электрофореза белки из гомогената мозга трансгенных мышей с БА (рис. 1-2). Анализ толщины бэндов с помощью ПО ImageJ показал, что уровень p-tau231 у трансгенных мышей в 3.4 раза выше, чем у мышей дикого типа (p<0.05) (рис. 2A).

Ранее аналогичные результаты были получены также в гиппокампе мышей линии APP/PS1 [22]. Таким образом, можно сделать вывод о том, что накопление p-tau231 в головном мозге может служить

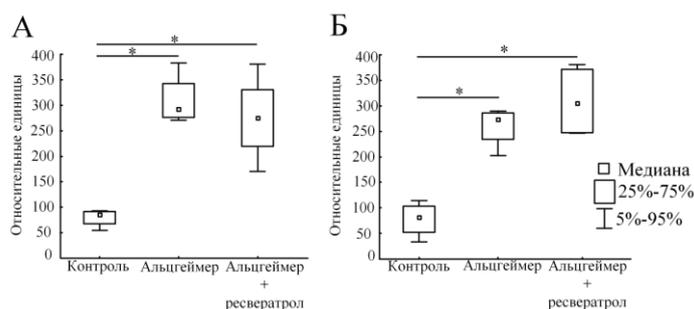


Рис. 2. Уровень белка p-tau (А) и MAPT (Б) в гомогенате мозга мышей экспериментальных групп

Fig. 2. Protein levels of p-tau (A) and MAPT (B) in the brain homogenate of mice from experimental groups

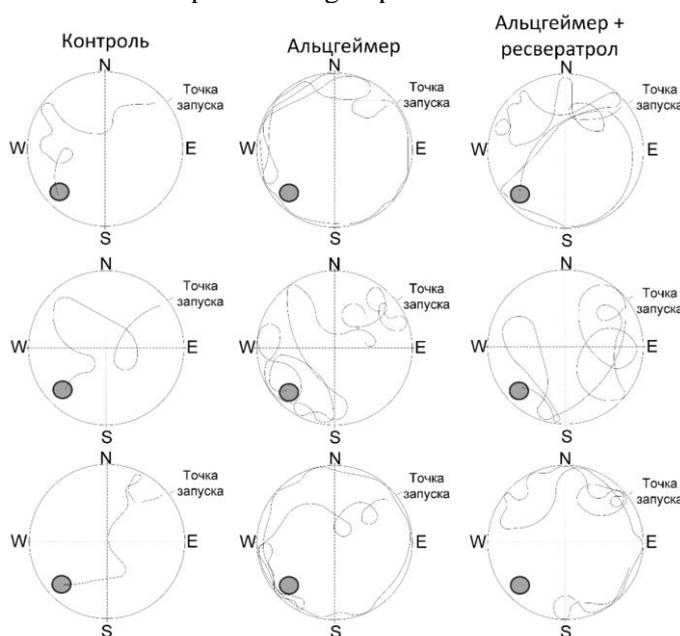


Рис. 3. Репрезентативные примеры траекторий движения в водном лабиринте Морриса мышей дикого типа (первый столбец), трансгенных мышей не получавших добавки (второй столбец) и трансгенных мышей, получавших предварительно ресвератрол.

Fig. 3. Representative examples of movement trajectories in the Morris water maze of wild mice (first column), transgenic mice without treatment (second column), and transgenic mice with preliminary resveratrol treatment

достаточно точным предиктором когнитивных нарушений уже на ранних стадиях БА.

Водный лабиринт Морриса показал, что 100% контрольных мышей дикого типа находили платформу в течение 60 секунд тестовой попытки, при этом практически все мыши целенаправленно двигались к платформе (рис. 3-4). Медианная дистанция, которую преодолевали контрольные мыши дикого типа, составляла 733 мм (444; 1194), контрольные мыши

линии APP/PS1 проплывали дистанцию 5974 мм (4731; 8109), трансгенные мыши, получавшие ресвератрол, проплывали в поисках платформы 4755 мм (2716; 5402). Это может свидетельствовать о том, что у трансгенных мышей нарушены когнитивные способности, в частности, процесс запоминания места расположения платформы, что выражается в статистически достоверном увеличении проплываемой дистанции ($p < 0.001$). При этом у

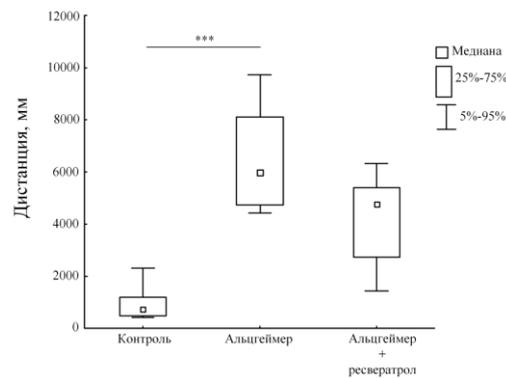


Рис. 4. Дистанция, которую мыши проплывали до нахождения платформы в тесте водного лабиринта Морриса

Fig. 4. The swimming distance that mice covered to find the platform in the Morris water maze test

трансгенных мышей, получавших ресвератрол, когнитивные дефициты менее ярко выражены, и статистически значимых различий с мышами дикого типа обнаружено не было. Трансгенные мыши, не получавшие ресвератрол, находили платформу менее чем в 20% случаев, при этом траектория поиска платформы свидетельствует о том, что у этих мышей был ярко выражен тигмотаксис. Тигмотаксис – это особенность поведения животного при различных неврологических патологиях, в том числе и при БА, связанная со склонностью перемещаться по краю окружающей среды [23]. Такое поведение используется в качестве маркера стресса и когнитивных нарушений у грызунов в тесте водного лабиринта Морриса [24;25]. Таким образом, результаты теста подтверждают корреляцию тигмотаксического поведения с увеличением количества p-tau у трансгенных мышей.

При этом было показано, что природный полифенол ресвератрол не способствовал снижению уровня p-tau²³¹, о чем свидетельствует толщина бэндов, которые были получены при проявлении антител, связанных с белками p-tau²³¹, сорбированных на PVDF мембрану. Ранее Miyasaka et al. показали, что лечение другим растительным полифенолом куркумином трансгенных *Caenorhabditis elegans* с tau-индуцированной дисфункцией нейронов также существенно не

влияло на агрегацию p-tau, но улучшало функции нейронов и стабилизировало микротрубочки [26]. В двух других исследованиях изучалось влияние ресвератрола на белок tau у мышей, при этом Porquet et al. обнаружили снижение соотношения p-tau и tau, в то время как в исследованиях Varamini et al. подобных различий не было продемонстрировано [27;28]. Одно из возможных объяснений полученных результатов заключается в том, что это соединение может блокировать или обращать вспять поздние стадии агрегации гиперфосфорилированного tau, тем самым уменьшая количество клубков, но приводя к накоплению (непосредственно перед точкой блокировки) относительно более растворимых форм гиперфосфорилированного tau. Другими словами, гиперфосфорилированный tau может связывать ресвератрол и стабилизироваться в относительно растворимой форме, предотвращая агрегацию tau в клубочки. Это также приведет к увеличению количества экстрагируемого гиперфосфорилированного tau. И наоборот, отсутствие ресвератрола может позволить гиперфосфорилированному tau агрегировать в нерастворимые клубки, тем самым увеличивая количество клубков, видимых в срезах мозга, и уменьшая количество растворимого гиперфосфорилированного tau [29]. В целом, tau по-разному

фосфорилируется в более чем 30 участках мозга при БА по сравнению с нормой. Хотя за фосфорилирование ответственны несколько киназ, включая CDK5 и GSK3 β , протеинфосфатаза 2A (PP2A) является основной фосфатазой p-tau в мозге [30]. Каталитическая субъединица PP2A (PP2Ac) и ее регуляторная субъединица $\alpha 4$ взаимодействуют с ассоциированной с микротрубочками убиквитинлигазой MID1. После образования комплекса MID1 опосредует убиквитин-специфичную модификацию PP2Ac и его деградацию с помощью протеасомы, тем самым обеспечивая высокоспецифичный режим регуляции, центрированный в микротрубочках, для PP2A [31]. Ресвератрол, по-видимому, мешает этому взаимодействию и выступает в роли посредника в повышении активности PP2A, специфичной для микротрубочек. Лечение ресвератролом напрямую влияет на комплекс деградации MID1- $\alpha 4$ -PP2A, снижая экспрессию белка MID1 *in vitro* и *in vivo*. Это приводит к увеличению активности PP2A, связанной с микротрубочками, и зависимо от времени и дозы дефосфорилированию p-tau [32].

При множественных нейродегенеративных заболеваниях, включая БА, характерной патологической особенностью является aberrантная агрегация и образование включений связанного с микротрубочками белка tau (МАРТ) [33;34]. МАРТ представляет собой внутренне неупорядоченный белок, экспрессирующийся в нейронах центральной нервной системы [35]. Мутации гена МАРТ могут оказывать несколько различных эффектов на функции и свойства tau. Эти эффекты могут перекрываться или полностью различаться в зависимости от мутации, но все они приводят к образованию

агрегированных tau-включений с гибелью и атрофией нейронов [34]. Аналогичным образом, у трансгенных мышей уровень белка МАРТ был увеличен в 3,4 раза по сравнению с контрольными мышами ($p < 0.05$), тогда как ресвератрол не оказывал значительного эффекта на количество данного белка. Уровень МАРТ в группе трансгенных мышей, получавших ресвератрол был в 3.9 раз выше, чем в контрольной группе ($p < 0.05$) (рис. 1,2Б). Ранее было показано, что экспрессия МАРТ в мозге увеличивается при тауопатиях, в том числе при БА [36].

Заключение

С помощью сорбционных методов нами было показано, что в мозге у трансгенных мышей линии APP/PS1 увеличивается уровень p-tau и белка МАРТ, что также наблюдается и в мозге пациентов с БА. Наши исследования продемонстрировали, что природный полифенол ресвератрол частично нивелирует когнитивные дефициты, вызванные накоплением неправильно свернутых и гиперфосфорилированных белков, но при этом, не оказывает влияния на их содержание в мозге. Таким образом, ресвератрол может рассматриваться как препарат для улучшения памяти при данной форме деменции, но при этом он не может влиять на одну из первопричин развития БА.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Nguyen C. The Eye As a Biomarker for Alzheimer's Disease. *Front Neurosci.* 2016; 10: 536.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00536>

Список литературы/References

1. Lim J., Li Q., He Z., Vingrys A., Wong V., Currier N., Mullen J., Bui B.,



2. Moda F., Ciullini A., Dellarole I., Lombardo A., Campanella N., Bufano G., Cazzaniga F., Giaccone G. Secondary Protein Aggregates in Neurodegenerative Diseases: Almost the Rule Rather than the Exception. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2023; 28(10): 255. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2810255>
3. Irvine G., El-Agnaf O., Shankar G. *et al*. Protein Aggregation in the Brain: The Molecular Basis for Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Mol. Med.* 2008; 14: 451–464. <https://doi.org/10.2119/2007-00100.irvine>
4. Previs M., VanBuren P., Begin K., Vigoreaux J., LeWinter M., Matthews D. Quantification of protein phosphorylation by liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2008; 80(15): 5864-72. <https://doi.org/10.1021/ac800337v>
5. Bass J., Wilkinson D., Rankin D., Phillips B., Szewczyk N., Smith K., Atherton P. An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research. *Scand J Med Sci Sports.* 2017; 27(1): 4-25. <https://doi.org/10.1111/sms.12702>
6. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Bull World Health Organ.* 1976; 54(2): 129-39. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc2366430/>
7. Mishra M., Tiwari S., Gomes A. Protein purification and analysis: next generation Western blotting techniques. *Expert Rev Proteomics.* 2017; 14(11): 1037-1053. <https://doi.org/10.1080/14789450.2017.1388167>
8. Goedert M., Wischik C., Crowther R., Walker J., Klug A. Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease: identification as the microtubule-associated protein tau. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988; 85(11): 4051-5. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.11.4051>
9. Arendt T., Stieler J., Holzer M. Tau and tauopathies. *Brain Res Bull.* 2016; 126(3): 238-292. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.08.018>
10. Blennow K., Hampel H., Weiner M., Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010; 6(3): 131-44. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.4>
11. Jack C., Wiste H., Botha H., Weigand S., Therneau T., Knopman D., Graff-Radford J., Jones D., Ferman T., Boeve B., Kantarci K., Lowe V., Vemuri P., Mielke M., Fields J., Machulda M., Schwarz C., Senjem M., Gunter J., Petersen R. The bivariate distribution of amyloid- β and tau: relationship with established neurocognitive clinical syndromes. *Brain.* 2019; 142(10): 3230-3242. <https://doi.org/10.1093/brain/awz268>
12. Aschenbrenner A., Gordon B., Benzinger T., Morris J., Hassenstab J. Influence of tau PET, amyloid PET, and hippocampal volume on cognition in Alzheimer disease. *Neurology.* 2018; 91(9): e859-e866. <https://doi.org/10.1212/wnl.00000000000006075>
13. Pillai J., Cummings J. Clinical trials in pre-dementia stages of Alzheimer disease. *Med Clin North Am.* 2013; 97(3): 439-57. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2013.01.002>
14. Bukhari S. Dietary Polyphenols as Therapeutic Intervention for Alzheimer's Disease: A Mechanistic Insight. *Antioxidants (Basel).* 2022; 11(3): 554. <https://doi.org/10.3390/antiox11030554>
15. Islam F., Nafady M., Islam M. *et al*. Resveratrol and neuroprotection: an insight into prospective therapeutic approaches against Alzheimer's disease from bench to bedside. *Mol Neurobiol.* 2022; 59: 4384-4404. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-02859-7>
16. Sadovnikova I., Gureev A., Ignatyeva D., Gryaznova M., Chernyshova E., Krutskikh E., Novikova A., Popov V. Nrf2/ARE Activators Improve Memory in Aged Mice via Maintaining of Mitochondrial Quality Control of Brain and the Mod-



- ulation of Gut Microbiome. *Pharmaceuticals*. 2021; 14(7): 607. <https://doi.org/10.3390/ph14070607>
17. Patel K., Scott E., Brown V., Gescher A., Steward W., Brown K. Clinical trials of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2011; 1215: 161-169. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05853.x>
18. Mohammadpourfazeli S., Arash S., Ansari A., Yang S., Mallick K., Bagherzadeh R. Future prospects and recent developments of polyvinylidene fluoride (PVDF) piezoelectric polymer; fabrication methods, structure, and electro-mechanical properties. *RSC Adv*. 2023; 13(1): 370-387. <https://doi.org/10.1039/d2ra06774a>
19. Vorhees C., Williams M. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc*. 2006; 1(2): 848-58. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.116>
20. Wang Y., Wang K., Yan J., Zhou Q., Wang X. Recent Progress in Research on Mechanisms of Action of Natural Products against Alzheimer's Disease: Dietary Plant Polyphenols. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(22): 13886. <https://doi.org/10.3390/ijms232213886>
21. Ashton N., Benedet A., Pascoal T., Karikari T., Lantero-Rodriguez J., Brum W., Mathotaarachchi S., Therriault J., Savard M., Chamoun M., Stoops E., Francois C., Vanmechelen E., Gauthier S., Zimmer E., Zetterberg H., Blennow K., Rosa-Neto P. Cerebrospinal fluid p-tau₂₃₁ as an early indicator of emerging pathology in Alzheimer's disease. *EBioMedicine*. 2022; 76: 103836. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103836>
22. Cheng C., Lin K., Hong C., Wu D., Chang H., Liu C., Hsiao I., Yang C., Liu Y., Hu C. Plasmon-Activated Water Reduces Amyloid Burden and Improves Memory in Animals with Alzheimer's Disease. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 13252. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49731-8>
23. Mayagoitia K., Tolan A., Shammi S., Shin S., Menchaca J., Figueroa J., Wilson C., Bellinger D., Ahmed A., Soriano S. Loss of APP in mice increases thigmotaxis and is associated with elevated brain expression of IL-13 and IP-10/CXCL10. *Physiol Behav*. 2021; 240: 113533. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113533>
24. Yan H., Wenxia Z., Yongxiang Z. Bright lighting conditions during testing increase thigmotaxis and impair water maze performance in BALB/c mice, *Behavioural Brain Research*. 2012; 226(1): 26-31. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.08.043>
25. Higaki A., Mogi M., Iwanami J., Min L-J., Bai H-Y., Shan B-S., et al. Recognition of early stage thigmotaxis in Morris water maze test with convolutional neural network. *PLoS ONE*. 2018; 13(5): e0197003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197003>
26. Miyasaka T., Xie C., Yoshimura S., Shinzaki Y., Yoshina S., Kage-Nakadai E., Mitani S., Ihara Y. Curcumin improves tau-induced neuronal dysfunction of nematodes. *Neurobiol Aging*. 2016; 39: 69-81. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.11.004>
27. Porquet D., Casadesús G., Bayod S., Vicente A., Canudas A., Vilaplana J., Pelegrí C., Sanfeliu C., Camins A., Pallàs M., del Valle J. Dietary resveratrol prevents Alzheimer's markers and increases life span in SAMP8. *Age (Dordr)*. 2013; 35(5): 1851-65. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9489-4>
28. Varamini B., Sikalidis A., Bradford K. Resveratrol increases cerebral glycogen synthase kinase phosphorylation as well as protein levels of drebrin and transthyretin in mice: an exploratory study. *Int J Food Sci Nutr*. 2014; 65(1): 89-96. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.832171>
29. Yu K., Kwan P., Cheung S., Ho A., Baum L. Effects of Resveratrol and Morin on Insoluble Tau in Tau Transgenic Mice. *Transl Neurosci*. 2018; 9: 54-60. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2018-0010>
30. Liu F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Gong C. Contributions of protein phospho-



tases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci.* 2005; 22(8): 1942-50. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04391.x>

31. Brest P., Lapaquette P., Souidi M., Lebrigand K., Cesaro A., Vouret-Craviari V., Mari B., Barbry P., Mosnier J., Hébuterne X., Harel-Bellan A., Mograbi B., Darfeuille-Michaud A., Hofman P. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR-196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. *Nat Genet.* 2011; 43(3): 242-5. <https://doi.org/10.1038/ng.762>

32. Schweiger S., Matthes F., Posey K., Kickstein E., Weber S., Hettich M., Pfurtscheller S., Ehninger D., Schneider R., Krauß S. Resveratrol induces dephosphorylation of Tau by interfering with the MID1-PP2A complex. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 13753. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12974-4>

33. Wood H. Alzheimer disease: Biomarkers of AD risk - the end of the road for

plasma amyloid- β ? *Nat Rev Neurol.* 2016; 12(11): 613. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2016.160>

34. Strang K., Golde T., Giasson B. MAPT mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Lab Invest.* 2019; 99(7): 912-928. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0197-x>

35. Caillet-Boudin M., Buée L., Sergeant N., Lefebvre B. Regulation of human MAPT gene expression. *Mol Neurodegener.* 2015; 10: 28. <https://doi.org/10.1186/s13024-015-0025-8>

36. Forrest S., Lee S., Nassir N., Martinez-Valbuena I., Sackmann V., Li J., Ahmed A., Tartaglia M., Ittner L., Lang A., Uddin M., Kovacs G. Cell-specific MAPT gene expression is preserved in neuronal and glial tau cytopathologies in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol.* 2023; 146(3): 395-414. <https://doi.org/10.1007/s00401-023-02604-x>

Информация об авторах / Information about the authors

Е.В. Чернышова – лаборант кафедры генетики цитологии и биоинженерии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Е.П. Крутских – инженер-биолог кафедры генетики цитологии и биоинженерии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

П.И. Бабенкова – студент кафедры генетики цитологии и биоинженерии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

В.В. Нестерова – студент кафедры генетики цитологии и биоинженерии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

И.Б. Певзнер – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории структуры и функции митохондрий, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского МГУ, Москва, Россия

Е.Ю. Плотников – д.б.н., заведующий лабораторией структуры и функции митохондрий, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского МГУ, Москва, Россия

А.П. Гуреев – к.б.н., доцент кафедры генетики цитологии и биоинженерии, Воронежский государственный университет, Воронеж; младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

E.V. Chernyshova – laboratory assistant at the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh, Russia

E.P. Krutskikh – biological engineer, Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh, Russia

P.I. Babenkova – student of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh, Russia

V.V. Nesterova – student of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh, Russia

I.B. Pevzner – Ph.D. (Biol), Leading Researcher, Laboratory of Mitochondrial Structure and Function, A.N. Belozersky Research Institute of Physical and Chemical Biology, Moscow State University, Moscow, Russia

E.Yu. Plotnikov – Doctor of Science (Biol), Head of the Laboratory of Mitochondrial Structure and Function, A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Moscow, Russia

A.P. Gureev – Ph.D. (Biol), Associate Professor, Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh; Junior Researcher, Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia

Статья поступила в редакцию 30.01.2024; одобрена после рецензирования 10.05.2024; принята к публикации 15.05.2024.

The article was submitted 30.01.2024; approved after reviewing 10.05.2024; accepted for publication 15.05.2024.