

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Эффекты центрального введения Тау-белка человека на экспрессию генов *Bdnf*, *Trkb*, *p75*, *Mapt*, *Bax* и *Bcl-2* в мозге мышей

А.С. Орешко*, А.Я. Родный*, Д.В. Базовкина, В.С. Науменко 

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 naumenko2002@mail.ru

Аннотация. Болезнь Альцгеймера – это наиболее распространенная форма деменции, вызывающая прогрессирующую утрату когнитивных способностей и поражающая миллионы людей во всем мире. Несмотря на интенсивную работу множества исследовательских групп, механизмы, лежащие в основе развития болезни Альцгеймера, до сих пор не выяснены. В последнее время все больше усилий направлено на изучение механизмов, приводящих к формированию внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, состоящих из гиперфосфорилированного Тау-белка, ассоциированного с микротрубочками. Патологическая агрегация Тау-белка, как известно, приводит к развитию нейродегенерации, связанной с нарушением нейрогенеза и апоптоза. В данном исследовании мы рассмотрели эффекты центрального введения агрегирующего Тау-белка человека на паттерны экспрессии генов *Bdnf*, *Ntrk2*, *Ngfr*, *Mapt*, *Bax* и *Bcl-2* в мозге мышей линии C57Bl/6J. Обнаружено, что через пять дней после введения Тау-белка человека в левый боковой желудочек мозга мыши происходят существенные изменения в паттернах экспрессии генов, принимающих участие в регуляции апоптоза и нейрогенеза. Так, было показано значительное снижение уровня мРНК гена *Bdnf*, кодирующего важнейший нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor), во фронтальной коре мозга мышей экспериментальной группы, что может играть важную роль в нейродегенерации, вызываемой патологической агрегацией Тау-белка. В то же время центральное введение Тау-белка человека не повлияло на экспрессию генов *Ntrk2*, *Ngfr*, *Mapt*, *Bax* и *Bcl-2* во фронтальной коре и гиппокампе мышей. При этом в мозжечке было обнаружено существенное снижение экспрессии гена *Mapt*, кодирующего эндогенный Тау-белок мыши. Однако изменений в уровне белка и фосфорилировании эндогенного Тау-белка в исследованных структурах мозга не выявлено. Таким образом, центральное введение агрегирующего Тау-белка человека приводит к снижению экспрессии гена *Bdnf* во фронтальной коре и гена эндогенного Тау-белка (*Mapt*) в мозжечке мышей линии C57Bl/6J.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; Тау-белок; *Bdnf*; нейрогенез; апоптоз; мыши.

Для цитирования: Орешко А.С., Родный А.Я., Базовкина Д.В., Науменко В.С. Эффекты центрального введения Тау-белка человека на экспрессию генов *Bdnf*, *Trkb*, *p75*, *Mapt*, *Bax* и *Bcl-2* в мозге мышей. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(4):342-348. DOI 10.18699/VJGB-23-41

Effects of central administration of the human Tau protein on the *Bdnf*, *Trkb*, *p75*, *Mapt*, *Bax* and *Bcl-2* genes expression in the mouse brain

A.S. Oreshko*, A.Ya. Rodnyy*, D.V. Bazovkina, V.S. Naumenko 

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 naumenko2002@mail.ru

Abstract. Alzheimer's disease is the most common form of dementia, affecting millions of people worldwide. Despite intensive work by many researchers, the mechanisms underlying Alzheimer's disease development have not yet been elucidated. Recently, more studies have been directed to the investigation of the processes leading to the formation of neurofibrillary tangles consisting of hyperphosphorylated microtubule-associated Tau proteins. Pathological aggregation of this protein leads to the development of neurodegeneration associated with impaired neurogenesis and apoptosis. In the present study, the effects of central administration of aggregating human Tau protein on the expression of the *Bdnf*, *Ntrk2*, *Ngfr*, *Mapt*, *Bax* and *Bcl-2* genes in the brain of C57Bl/6J mice were explored. It was found that five days after administration of the protein into the fourth lateral ventricle, significant changes occurred in the expression of the genes involved in apoptosis and neurogenesis regulation, e. g., a notable decrease in the mRNA level of the gene encoding the most important neurotrophic factor BDNF (brain-derived neurotrophic factor) was observed in the frontal cortex which could play an important role in neurodegeneration caused by

pathological Tau protein aggregation. Central administration of the Tau protein did not affect the expression of the *Ntrk2*, *Ngfr*, *Mapt*, *Bax* and *Bcl-2* genes in the frontal cortex and hippocampus. Concurrently, a significant decrease in the expression of the *Mapt* gene encoding endogenous mouse Tau protein was found in the cerebellum. However, no changes in the level or phosphorylation of the endogenous Tau protein were observed. Thus, central administration of aggregating human Tau protein decreases the expression of the *Bdnf* gene in the frontal cortex and the *Mapt* gene encoding endogenous mouse Tau protein in the cerebellum of C57Bl/6J mice.

Key words: Alzheimer's disease; Tau protein; *Bdnf*; neurogenesis; apoptosis; mice.

For citation: Oreshko A.S., Rodnyy A.Ya., Bazovkina D.V., Naumenko V.S. Effects of central administration of the human Tau protein on the *Bdnf*, *Trkb*, *p75*, *Mapt*, *Bax* and *Bcl-2* genes expression in the mouse brain. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(4):342-348. DOI 10.18699/VJGB-23-41

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее частой причиной деменции с распространенностью 24 миллиона и частотой до 5 миллионов в год (Ferri et al., 2005). Россия входит в число девяти стран с наибольшим числом людей с деменцией (Prince et al., 2013; Collaborators, 2019). Годовой уровень смертности от БА и других форм деменции в России в 2016 г. достиг 35.7 человека на 100000 жителей (https://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/). Вероятно, это число сильно занижено, поскольку многие случаи БА остаются незарегистрированными.

Болезнь Альцгеймера характеризуется двумя основными гистопатологическими признаками: внеклеточными амилоидными бляшками, образованными нерастворимыми агрегатами гидрофобного бета-амилоидного пептида, и внутриклеточными нейрофибрилярными клубками, состоящими из гиперфосфорилированного Тау-белка, ассоциированного с микротрубочками. Накопление этих двух основных типов агрегатов приводит к необратимой нейродегенерации, которая медленно распространяется по всему мозгу и вызывает прогрессирующую потерю памяти, снижение когнитивных функций, тяжелую деменцию и, наконец, смерть (Breijueh, Karaman, 2020). Хотя многие поколения исследователей пытались разгадать механизмы, лежащие в основе этого заболевания, до полного понимания еще далеко. В последние годы внимание все большего числа ученых направлено на изучение механизмов развития Тау-патологии.

Тау-белок входит в семейство белков, ассоциированных с микротрубочками (microtubule-associated protein, MAP). В норме этот белок участвует в формировании и стабилизации микротрубочек в нейронах и принимает участие в регуляции аксонального транспорта и роста аксонов (Avila et al., 2004). Основная функция Тау-белка – регуляция полимеризации тубулина, однако для него также были выявлены функция защиты ДНК/РНК, сигнальные функции и роль в регуляции транскрипции (Mandelkowitz E.M., Mandelkowitz E., 2012; Tapia-Rojas et al., 2019; Wegmann et al., 2021; Giovannini et al., 2022). При патологии накопление нерастворимых агрегатов Тау-белка приводит к развитию нейродегенерации, которая, очевидно, связана с нарушением процессов нейрогенеза и апоптоза. Так, было показано, что уровень экспрессии Тау-белка отрицательно коррелирует с экспрессией нейротрофического фактора мозга BDNF (Wei et al., 2022), играющего важнейшую роль в развитии и поддержании нейронов (Lu, Figurov, 1997; Benarroch, 2015; Gulyaeva, 2017). Аналогичная корреляция

продемонстрирована и для патологического гиперфосфорилирования Тау-белка (Yuan et al., 2022). Повышение экспрессии Тау-белка снижает также уровень BDNF в плазме крови (Alvarez et al., 2022). Различные воздействия, повышающие экспрессию BDNF, подавляют экспрессию и патологическое гиперфосфорилирование Тау-белка (Li et al., 2022; Lin et al., 2022). Фармакологические препараты, в том числе растительного происхождения, улучшающие эффективность выполнения когнитивных задач в различных моделях, снижают экспрессию Тау-белка и гена проапоптотического белка BAX, что сопровождается повышением экспрессии антиапоптотического белка BCL-2 (Huang et al., 2022; Tu et al., 2022; Zhang et al., 2022), ростом экспрессии BDNF, а также увеличением экспрессии и фосфорилирования TrkB рецепторов, опосредующих позитивные эффекты BDNF (Zhao et al., 2021; Liu et al., 2022; Nandini et al., 2022; Saikia et al., 2022; Wang et al., 2022). Активация TrkB рецептора приводит к снижению фосфорилирования Тау как *in vitro* в культуре клеток, так и *in vivo* в животных моделях (Chiang et al., 2021; Liao et al., 2021; Gonzalez et al., 2022).

Связь неспецифического рецептора p75, опосредующего проапоптотические эффекты предшественника BDNF (Guo et al., 2016; Hashimoto, 2016), с Тау-патологией менее однозначна. В некоторых работах показано, что неблагоприятные эффекты старения и воспаления могут быть частично опосредованы увеличением экспрессии p75 рецептора в мозге (Xie et al., 2021). При этом блокада p75 рецептора подавляет индуцированное proNGF (предшественник фактора роста нервов – nerve growth factor) фосфорилирование Тау-белка (Shen et al., 2018). Антагонист p75 рецептора, LM11A-31, тоже подавляет гиперфосфорилирование и патологическую агрегацию Тау-белка в модели БА на мышах (Yang et al., 2020).

При этом остается неясным, какое влияние оказывает введение агрегирующего Тау-белка человека в мозг мыши на паттерны экспрессии генов, вовлеченных в процессы нейрогенеза и апоптоза. Целью нашей работы стало исследование возможности использования мышей стандартной линии C57Bl/6J после введения агрегирующего Тау-белка человека в левый боковой желудочек мозга в качестве модели для изучения механизмов Тау-патологии. В частности, мы запланировали оценить эффекты центрального введения Тау-белка человека на паттерны экспрессии генов *Bdnf*, *Ntrk2* (кодирует TrkB рецептор), *Ngfr* (кодирует рецептор p75), *Mapt* (кодирует эндогенный Тау-белок), *Bax* и *Bcl-2* в мозге мышей, а также на уровень и фосфорилирование эндогенного Тау-белка мыши.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Работа проводилась на самцах мышей инбредной линии C57Bl/6J весом 27 ± 0.3 г, возрастом 10–12 недель. Всех животных во всех сериях эксперимента содержали в стандартных условиях вивария ИЦиГ СО РАН при искусственном 14-часовом освещении, влажности 60 %, температуре 23 °C и свободном доступе к сбалансированному корму и воде.

Исследование выполнено на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ФИЦ «Институт цитологии и генетики» СО РАН (RFMEFI62119X0023). Все процедуры с экспериментальными животными выполнялись в соответствии с международными правилами обращения с животными (Directive 2010/63/EU EC) и Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (зарегистрирован 15.08.2016 № 43232).

Внутрижелудочковое введение Тау-белка. Тау-белок человека был синтезирован в Объединенном диагностическом исследовательском центре диагностики и лечения деменции и ухода за пациентами Института науки о мозге, Корейский институт науки и технологий, и любезно предоставлен директором института доктором Юн Гён Ким (Dr. Yun Kyung Kim, Convergence Research Center for Diagnosis, Treatment and Care System of Dementia, Brain Science Institute, Korea Institute of Science and Technology (KIST)).

Препарат был разведен в DMSO до концентрации 2 мг/мл и затем разведен физиологическим раствором до концентрации 0.2 мкг/мкл. Препарат вводили в дозе 1 мкг в левый боковой желудочек мозга (i.c.v.), AP: –0.5, L: –1.6 mm, DV: 2 mm (Slotnick, Leonard, 1975) при помощи микроинъекции с использованием стереотаксической

установки TSE (Германия). Животных предварительно усыпляли в течение 20–30 с с помощью диэтилового эфира (Kondaurova et al., 2012). Мыши контрольной группы получали инъекцию растворителя того же состава. Объем центрально вводимых жидкостей составлял 5 мкл. Через три дня после инъекции животных рассаживали по индивидуальным клеткам для снятия групповых эффектов. Через 46–48 ч мышей декапитировали, на льду выделяли фронтальную кору, гиппокамп и мозжечок (в качестве контрольной структуры мозга, которая в меньшей степени задействована в реализации эффектов гиперфосфорилирования и агрегации Тау-белка), замораживали структуры мозга в жидком азоте и хранили при –80 °C до процедуры выделения общей РНК и вестерн-блот анализа.

ОТ-ПЦР. Общую РНК выделяли с помощью реагента Trizol (ThermoScientific, США), и 1 мкг мРНК использовали для синтеза кДНК со случайным гексануклеотидным праймером. ПЦР проводили как в наших предыдущих работах (Naumenko et al., 2013a, b; Kondaurova et al., 2020). Количественную ПЦР в реальном времени выполняли с использованием праймеров, описанных в таблице. Экспрессия генов была представлена как относительное количество копий кДНК по отношению к 100 копиям кДНК *Polr2a* (Kulikov et al., 2005; Naumenko, Kulikov, 2006; Naumenko et al., 2008).

Вестерн-блот анализ детально описан в наших предыдущих работах (Ichibaeva et al., 2018; Popova et al., 2020). Вкратце, из образцов мозга выделяли общую фракцию белка. Затем образцы разделяли с помощью 10 % SDS-PAGE и переносили на нитроцеллюлозную мембрану. Далее мембрану блокировали 5 % сухим обезжиренным молоком или 5 % BSA (для Phospho-Tau Thr18) в течение 1 ч, а затем инкубировали с первичными антителами к белкам Тау (5A6, 1:1000, DSHB, США) и GAPDH (CAB932Hu01, 1: 2500, Cloud-Clone Corp., США) в 5 % сухом молоке с TBS-T или в 5 % FBS с TBS-T для Phospho-Tau Thr181 (AT270, 1:1000, Thermo Fisher Scientific, США), 16 ч при 4 °C. Для детекции белка мембраны инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (антитела против мышинных иммуноглобулинов ab6728, 1:20 000, Invitrogen, США, Abcam, Великобритания) в 5 % FBS с TBS-T в течение 1 ч при комнатной температуре. Белковые бэнды визуализировали с использованием субстрата Clarity Western ECL (Bio-Rad., США) и хемилуминесцентного блот-сканера C-DiGit (LI-COR, США). Количественную оценку белковых полос осуществляли с помощью Image Studio (LICOR, США). Уровни целевых белков были нормализованы к уровню экспрессии GAPDH, которая конститутивна для клеток мозга, и представлены в процентах от контрольных животных. Количество проанализированных образцов $n \geq 8$.

Статистический анализ. Результаты представлены как $m \pm SEM$, где m – среднее, SEM – стандартная ошибка среднего. Выборки сравнивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Достоверными считались различия при критерии значимости $p < 0.05$. Нормальности дисперсий проверяли с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Критерий Диксона использовали для выявления и исключения крайних отклонений из анализа.

Нуклеотидные последовательности праймеров и их характеристики

Ген	Нуклеотидная последовательность	$T_{отж.}$ °C	Длина продукта ПЦР, п. н.
<i>Bdnf</i>	5'-tagcaaaaagagaattggctg-3' R5'-tttcaggtcatgatgtcc-3'	59	255
<i>Ntrk2</i>	5'-cattcactgtgagaggcaacc-3' R5'-atcagggtgtagtctcgttatt-3'	63	175
<i>Ngfr</i>	5'-асаасaccagcaccagga-3' R5'-сасаaccagcagcсаага-3'	62	171
<i>Mapt</i>	5'-ссаагаagggtggcagtggtc-3' R5'-агагссаатcttcgacctgac-3'	63	119
<i>Bax</i>	5'-catctttgtggctggagtcctc-3' R5'-aagtggtgacctgaggtttatggc-3'	64	216
<i>Bcl-2</i>	5'-агагаггагаагсгггтагг-3' R5'-сctcgcttcactgctccttag-3'	64	187
<i>Polr2a</i>	5'-tgtgacaactccatacaatgc-3' R5'-ctctcttagtgaatttgcgtact-3'	61	194

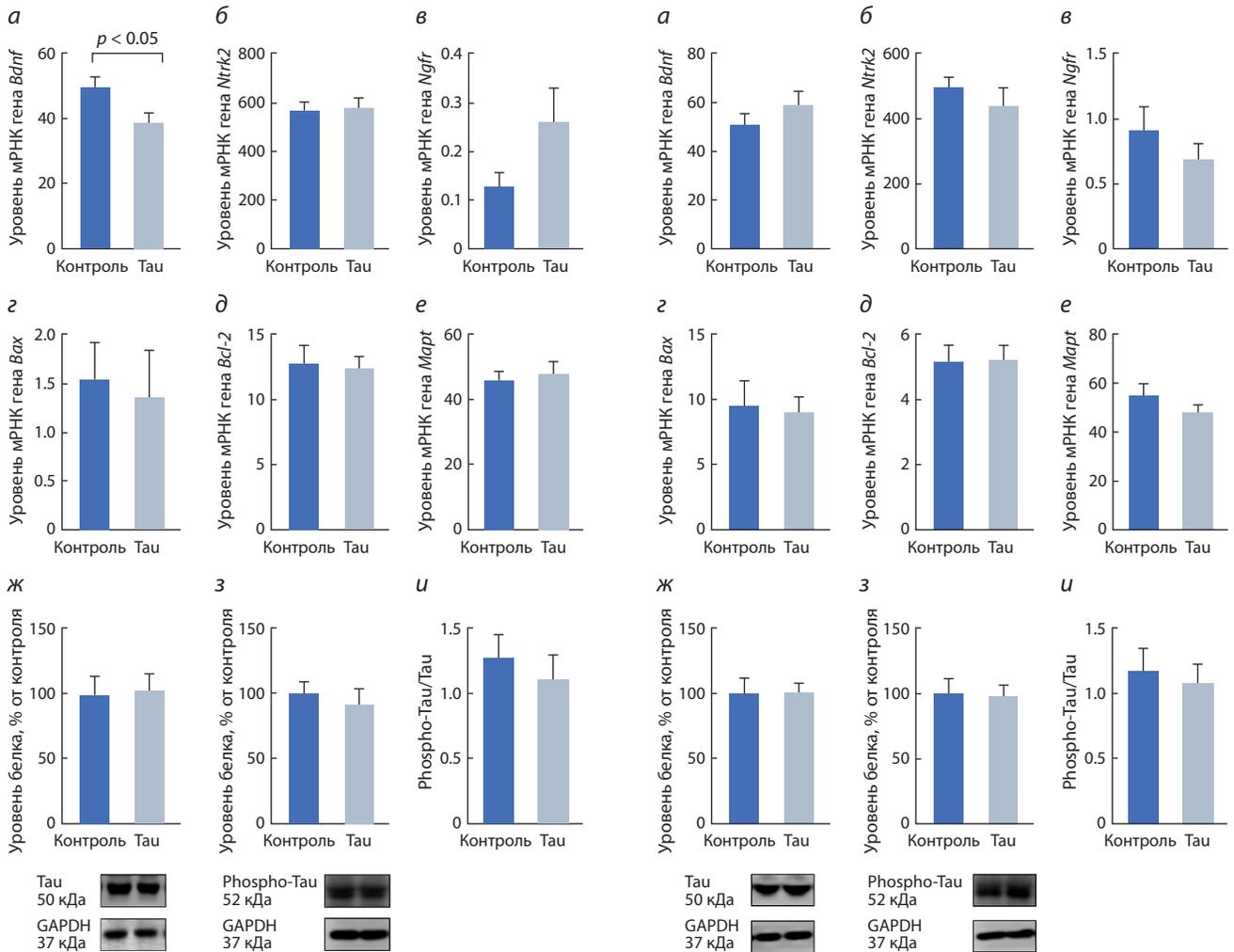


Рис. 1. Эффект центрального введения Тау-белка человека на экспрессию генов *Bdnf* (а), *Ntrk2* (б), *Ngfr* (в), *Bax* (г) и *Bcl-2* (д), а также уровень мРНК гена *Mapt* (е), Тау-белка (ж), фосфорилированного Тау-белка (з) и соотношение фосфорилированного Тау-белка к Тау-белку (и) во фронтальной коре мышей линии C57Bl/6J.

Здесь и на рис. 2 и 3: экспрессия гена представлена как число копий кДНК соответствующего гена на 100 копий кДНК *Polr2a*. Уровень белка представлен в относительных единицах хемилюминесцентного сигнала и нормирован на уровень белка GAPDH. $n \geq 8$.

Результаты

Центральное введение Тау-белка человека привело к изменениям экспрессии гена, кодирующего BDNF. Во фронтальной коре животных экспериментальной группы было обнаружено существенное снижение экспрессии этого гена ($F_{1,13} = 7.2, p < 0.05$) (рис. 1, а). При этом каких-либо изменений в экспрессии генов, кодирующих рецепторы BDNF, не обнаружено ($F_{1,14} = 0.08$ для *Ntrk2* и $F_{1,14} = 1.9, p > 0.05$ для *Ngfr*) (см. рис. 1, б, в). Не выявлено также эффекта Тау-белка на экспрессию генов, кодирующих проапоптотический фактор BAX ($F_{1,13} = 0.08$) и антиапоптотический фактор BCL-2 ($F_{1,14} = 0.06$) (см. рис. 1, г, д). Центральное введение Тау-белка человека не привело к существенным изменениям в экспрессии эндогенного Тау-белка как на уровне мРНК ($F_{1,14} = 0.2$), так и на уровне белка ($F_{1,14} = 0.034$) (см. рис. 1, е, ж). Фосфори-

Рис. 2. Эффект центрального введения Тау-белка человека на экспрессию генов *Bdnf* (а), *Ntrk2* (б), *Ngfr* (в), *Bax* (г) и *Bcl-2* (д), а также уровень мРНК гена *Mapt* (е), Тау-белка (ж), фосфорилированного Тау-белка (з) и соотношение фосфорилированного Тау-белка к Тау-белку (и) в гиппокампе мышей линии C57Bl/6J.

лирование эндогенного Тау-белка тоже не было изменено ($F_{1,14} = 0.273$ для уровня phospho-Tau; $F_{1,14} = 0.393$ для соотношения phospho-Tau/Tau) (см. рис. 1, з, и).

В гиппокампе центральное введение Тау-белка человека не вызвало никаких существенных изменений в паттернах экспрессии исследованных генов ($F_{1,13} = 1.2, p > 0.05$ для *Bdnf*; $F_{1,14} = 0.8$ для *Ntrk2*; $F_{1,13} = 1.0, p > 0.05$ для *Ngfr*; $F_{1,12} = 0.004$ для *Bcl-2*; $F_{1,10} = 0.1$ для *Bax*) (рис. 2, а–д). Также не обнаружено существенных изменений в экспрессии эндогенного Тау-белка как на уровне мРНК ($F_{1,14} = 1.3, p > 0.05$), так и на уровне белка ($F_{1,14} = 0.508$) (см. рис. 2, е, ж). Фосфорилирование эндогенного Тау-белка тоже не было изменено ($F_{1,14} = 0.012$ для уровня phospho-Tau; $F_{1,13} = 0.015$ для соотношения phospho-Tau/Tau) (см. рис. 2, з, и).

В мозжечке Тау-белок человека также не оказал влияния на экспрессию генов *Bdnf* ($F_{1,14} = 0.3$), *Ntrk2* ($F_{1,14} = 0.5$), *Ngfr* ($F_{1,14} = 2.4, p > 0.05$) и *Bax* ($F_{1,11} = 1.4, p > 0.05$) (рис. 3, а–г). При этом была обнаружена тенденция к

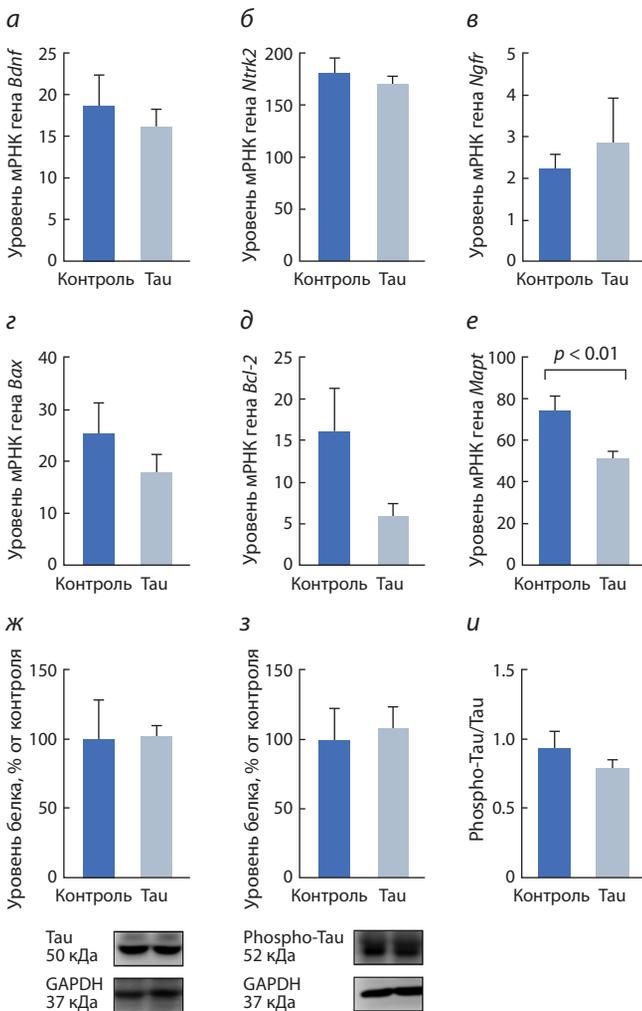


Рис. 3. Эффект центрального введения Tau-белка человека на экспрессию генов *Bdnf* (а), *Ntrk2* (б), *Ngfr* (в), *Bax* (г) и *Bcl-2* (д), а также уровень мРНК гена *Mapt* (е), Tau-белка (ж), фосфорилированного Tau-белка (з) и соотношение фосфорилированного Tau-белка к Tau-белку (и) в мозжечке мышей линии C57Bl/6J.

снижению антиапоптотического гена *Bcl-2* ($F_{1,14} = 3.8753$, $p = 0.076$) (см. рис. 3, д). Интересно, что центральное введение Tau-белка человека оказало существенный эффект на экспрессию гена, кодирующего эндогенный Tau-белок в мозжечке ($F_{1,11} = 9.7$, $p < 0.01$) (см. рис. 3, е). Однако при этом значительных изменений в уровне эндогенного Tau-белка ($F_{1,13} = 0.043$), как и в уровне его фосфорилирования ($F_{1,13} = 0.107$ для уровня phospho-Tau; $F_{1,13} = 0.011$ для соотношения phospho-Tau/Tau), выявлено не было (см. рис. 3, ж–и).

Обсуждение

Болезнь Альцгеймера является одной из самых распространенных причин деменции и поражает миллионы людей. Уход за пациентами с БА тяжелым бременем ложится на экономику страны. Несмотря на интенсивные исследования во всем мире, механизмы БА все еще не ясны и на сегодняшний день доступно только симптоматическое лечение. Болезнь Альцгеймера характеризуется формиро-

ванием двух типов белковых агрегатов, приводящих к развитию нейродегенерации. Это накопление внеклеточных амилоидных бляшек и внутриклеточных нейрофибриллярных клубков, состоящих из гиперфосфорилированного Tau-белка, ассоциированного с микротрубочками. Поскольку многолетние работы в области изучения амилоидной патологии не принесли желаемого результата, в последние годы все больше ученых направляют свое внимание на механизмы развития Tau-патологии.

В данной работе мы рассмотрели, как влияет центральное введение Tau-белка человека мышам на паттерны экспрессии генов, вовлеченных в процессы нейрогенеза и апоптоза, а также на уровень и фосфорилирование эндогенного Tau-белка. Показано, что введение Tau-белка человека в боковую желудочек мозга приводит к существенному снижению экспрессии гена, кодирующего нейротрофический фактор мозга BDNF во фронтальной коре. Принимая во внимание важнейшую роль этого фактора в развитии и поддержании нейронов (Lu, Figurov, 1997; Venaroch, 2015; Gulyaeva, 2017), можно предположить, что снижение экспрессии гена *Bdnf* может вызывать развитие нейродегенерации. Здесь необходимо подчеркнуть, что наиболее выраженные нейродегенеративные изменения, как и изменения функции клеток при БА, наблюдаются именно во фронтальной коре и гиппокампе (Guevara et al., 2022; Lee et al., 2022). Это связано в том числе с усиленным накоплением агрегатов Tau-белка в этих структурах мозга (Shimada et al., 2020) и ролью данных структур в регуляции когнитивных функций.

Интересно отметить, что в мозжечке, который не так существенно вовлечен в когнитивные процессы, нами тоже обнаружен эффект центрального введения Tau-белка. Было показано, что экспрессия гена *Mapt*, кодирующего эндогенный Tau-белок, снижена в мозжечке животных опытной группы. Частично наши результаты согласуются с данными о накоплении агрегатов Tau-белка в этой структуре мозга в некоторых случаях (Guevara et al., 2022). Тем не менее выявленные нами изменения в уровне мРНК Tau-белка в мозжечке не привели к существенным изменениям уровня эндогенного Tau-белка и его фосфорилирования. Не отмечено также изменений в уровнях мРНК, белка и фосфорилировании эндогенного Tau-белка во всех изученных структурах. Центральное введение Tau-белка человека мышам не повлияло существенно на экспрессию других исследованных генов.

В целом полученные нами данные совпадают с данными об отрицательной корреляции экспрессии (Wei et al., 2022) и гиперфосфорилирования (Yuan et al., 2022) Tau-белка и экспрессии нейротрофического фактора мозга BDNF. Однако, несмотря на хорошо задокументированную взаимосвязь между экспрессией Tau-белка и экспрессией про- и антиапоптотических генов (Huang et al., 2022; Tu et al., 2022; Zhang et al., 2022), а также гена, кодирующего TrkB рецептор BDNF (Zhao et al., 2021; Liu et al., 2022; Nandini et al., 2022; Saikia et al., 2022; Wang et al., 2022), внутривенное введение Tau-белка не оказало существенного влияния на паттерны экспрессии этих генов. Можно предположить, что введенный в межклеточное пространство экзогенный Tau-белок слабо проникает внутрь нейронов или быстро разрушается там, не

успевая запустить процесс их дегенерации. Вероятно, для более надежного анализа эффектов агрегации Тау-белка на функциональное состояние мозга необходимо обеспечить эндогенную экспрессию патологически фосфорилируемого Тау-белка в нейронах.

Заключение

Полученные в работе результаты указывают на то, что центральное введение Тау-белка человеку мышам линии C57Bl/6J оказывает весьма слабый эффект на экспрессию рассмотренных генов, принимающих участие в механизмах нейрогенеза и апоптоза. Тем не менее центральное введение Тау-белка человека приводит к снижению экспрессии гена BDNF во фронтальной коре и гена эндогенного Тау-белка в мозжечке мышей линии C57Bl/6J, однако не оказывает влияния на уровень и фосфорилирование эндогенного Тау-белка в исследованных структурах мозга мыши.

Список литературы / References

- Alvarez X.A., Winston C.N., Barlow J.W., Sarsoza F.M., Alvarez I., Aleixandre M., Linares C., Garcia-Fantini M., Kastberger B., Winter S., Rissman R.A. Modulation of amyloid- β and Tau in Alzheimer's disease plasma neuronal-derived extracellular vesicles by Cerebrolysin[®] and donepezil. *J. Alzheimers Dis.* 2022;90(2):705-717. DOI 10.3233/JAD-220575.
- Avila J., Lucas J.J., Perez M., Hernandez F. Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol. Rev.* 2004; 84(2):361-384. DOI 10.1152/physrev.00024.2003.
- Benarroch E.E. Brain-derived neurotrophic factor: regulation, effects, and potential clinical relevance. *Neurology.* 2015;84(16):1693-1704. DOI 10.1212/WNL.0000000000001507.
- Breijyeh Z., Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment. *Molecules.* 2020;25(24):5789. DOI 10.3390/molecules25245789.
- Chiang N.N., Lin T.H., Teng Y.S., Sun Y.C., Chang K.H., Lin C.Y., Hsieh-Li H.M., Su M.T., Chen C.M., Lee-Chen G.J. Flavones 7,8-DHF, quercetin, and apigenin against Tau toxicity via activation of TRKB signaling in $\Delta K280$ Tau_{RD}-DsRed SH-SY5Y cells. *Front. Aging Neurosci.* 2021;13:758895. DOI 10.3389/fnagi.2021.758895.
- Collaborators G.B.D.N. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019;18(5):459-480. DOI 10.1016/S1474-4422(18)30499-X.
- Ferri C.P., Prince M., Brayne C., Brodaty H., Fratiglioni L., Ganguli M., Hall K., Hasegawa K., Hendrie H., Huang Y., Jorm A., Mathers C., Menezes P.R., Rimmer E., Scazufca M., Alzheimer's Disease International. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet.* 2005;366(9503):2112-2117. DOI 10.1016/S0140-6736(05)67889-0.
- Giovannini J., Smeralda W., Jouanne M., Sopkova-de Oliveira Santos J., Catto M., Voisin-Chiret A.S. Tau protein aggregation: key features to improve drug discovery screening. *Drug Discov. Today.* 2022;27(5):1284-1297. DOI 10.1016/j.drudis.2022.01.009.
- Gonzalez S., McHugh T.L.M., Yang T., Syriani W., Massa S.M., Longo F.M., Simmons D.A. Small molecule modulation of TrkB and TrkC neurotrophin receptors prevents cholinergic neuron atrophy in an Alzheimer's disease mouse model at an advanced pathological stage. *Neurobiol. Dis.* 2022;162:105563. DOI 10.1016/j.nbd.2021.105563.
- Guevara E.E., Hopkins W.D., Hof P.R., Ely J.J., Bradley B.J., Sherwood C.C. Epigenetic ageing of the prefrontal cortex and cerebellum in humans and chimpanzees. *Epigenetics.* 2022;17(12):1774-1785. DOI 10.1080/15592294.2022.2080993.
- Gulyaeva N.V. Interplay between brain BDNF and glutamatergic systems: a brief state of the evidence and association with the pathogenesis of depression. *Biochemistry (Mosc.).* 2017;82(3):301-307. DOI 10.1134/S0006297917030087.
- Guo J., Ji Y., Ding Y., Jiang W., Sun Y., Lu B., Nagappan G. BDNF pro-peptide regulates dendritic spines via caspase-3. *Cell Death Dis.* 2016;7:e2264. DOI 10.1038/cddis.2016.166.
- Hashimoto K. Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its precursor proBDNF in the brain by serotonin. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2016;266(3):195-197. DOI 10.1007/s00406-016-0682-9.
- Huang J., Xu Z., Chen H., Lin Y., Wei J., Wang S., Yu H., Huang S., Zhang Y., Li C., Zhou X. Shen Qi Wan ameliorates learning and memory impairment induced by STZ in AD rats through PI3K/AKT pathway. *Brain Sci.* 2022;12(6):758. DOI 10.3390/brainsci12060758.
- Ilchibaeva T.V., Tsybko A.S., Kozhemyakina R.V., Kondaurova E.M., Popova N.K., Naumenko V.S. Genetically defined fear-induced aggression: focus on BDNF and its receptors. *Behav. Brain Res.* 2018; 343:102-110. DOI 10.1016/j.bbr.2018.01.034.
- Kondaurova E.M., Naumenko V.S., Popova N.K. Effect of chronic activation of 5-HT₃ receptors on 5-HT₃, 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors functional activity and expression of key genes of the brain serotonin system. *Neurosci. Lett.* 2012;522(1):52-56. DOI 10.1016/j.neulet.2012.06.015.
- Kondaurova E.M., Rodnyy A.Y., Ilchibaeva T.V., Tsybko A.S., Eremin D.V., Antonov Y.V., Popova N.K., Naumenko V.S. Genetic background underlying 5-HT_{1A} receptor functioning affects the response to fluoxetine. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(22):8784. DOI 10.3390/ijms21228784.
- Kulikov A.V., Naumenko V.S., Voronova I.P., Tikhonova M.A., Popova N.K. Quantitative RT-PCR assay of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an external standard. *J. Neurosci. Methods.* 2005;141(1):97-101. DOI 10.1016/j.jneumeth.2004.06.005.
- Lee Y., Miller M.R., Fernandez M.A., Berg E.L., Prada A.M., Ouyang Q., Schmidt M., Silverman J.L., Young-Pearse T.L., Morrow E.M. Early lysosome defects precede neurodegeneration with amyloid- β and tau aggregation in NHE6-null rat brain. *Brain.* 2022; 145(9):3187-3202. DOI 10.1093/brain/awab467.
- Li R., Ding X., Geetha T., Fadamiro M., St. Aubin C.R., Shim M., Al-Nakkash L., Broderick T.L., Babu J.R. Effects of genistein and exercise training on brain damage induced by a high-fat high-sucrose diet in female C57BL/6 mice. *Med. Cell. Longev.* 2022;2022:1560435. DOI 10.1155/2022/1560435.
- Liao J., Chen C., Ahn E.H., Liu X., Li H., Edgington-Mitchell L.E., Lu Z., Ming S., Ye K. Targeting both BDNF/TrkB pathway and delta-secretase for treating Alzheimer's disease. *Neuropharmacology.* 2021;197:108737. DOI 10.1016/j.neuropharm.2021.108737.
- Lin D.T., Kao N.J., Cross T.L., Lee W.J., Lin S.H. Effects of ketogenic diet on cognitive functions of mice fed high-fat-high-cholesterol diet. *J. Nutr. Biochem.* 2022;104:108974. DOI 10.1016/j.jnutbio.2022.108974.
- Liu S., Fan M., Xu J.X., Yang L.J., Qi C.C., Xia Q.R., Ge J.F. Exosomes derived from bone-marrow mesenchymal stem cells alleviate cognitive decline in AD-like mice by improving BDNF-related neuropathology. *J. Neuroinflammation.* 2022;19(1):35. DOI 10.1186/s12974-022-02393-2.
- Lu B., Figurov A. Role of neurotrophins in synapse development and plasticity. *Rev. Neurosci.* 1997;8(1):1-12. DOI 10.1515/revneuro.1997.8.1.1.
- Mandelkow E.M., Mandelkow E. Biochemistry and cell biology of Tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2012;2(7):a006247. DOI 10.1101/cshperspect.a006247.
- Nandini H.S., Krishna K.L., Apattira C. Combination of *Ocimum sanctum* extract and Levitracetam ameliorates cognitive dysfunction and hippocampal architecture in rat model of Alzheimer's disease. *J. Chem. Neuroanat.* 2022;120:102069. DOI 10.1016/j.jchemneu.2021.102069.
- Naumenko V.S., Bazovkina D.V., Semenova A.A., Tsybko A.S., Ilchibaeva T.V., Kondaurova E.M., Popova N.K. Effect of glial cell

- line-derived neurotrophic factor on behavior and key members of the brain serotonin system in mouse strains genetically predisposed to behavioral disorders. *J. Neurosci. Res.* 2013a;91(12):1628-1638. DOI 10.1002/jnr.23286.
- Naumenko V.S., Kozhemyakina R.V., Plyusnina I.F., Kulikov A.V., Popova N.K. Serotonin 5-HT_{1A} receptor in infancy-onset aggression: comparison with genetically defined aggression in adult rats. *Behav. Brain Res.* 2013b;243:97-101. DOI 10.1016/j.bbr.2012.12.059.
- Naumenko V.S., Kulikov A.V. Quantitative assay of 5-HT_{1A} serotonin receptor gene expression in the brain. *Mol. Biol.* 2006;40(1):30-36. DOI 10.1134/S0026893306010067.
- Naumenko V.S., Osipova D.V., Kostina E.V., Kulikov A.V. Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain. *J. Neurosci. Methods.* 2008;170(2):197-203. DOI 10.1016/j.jneumeth.2008.01.008.
- Popova N.K., Kulikov A.V., Naumenko V.S. Spaceflight and brain plasticity: spaceflight effects on regional expression of neurotransmitter systems and neurotrophic factors encoding genes. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2020;119:396-405. DOI 10.1016/j.neubiorev.2020.10.010.
- Prince M., Bryce R., Albanese E., Wimo A., Ribeiro W., Ferri C.P. The global prevalence of dementia: a systematic review and meta-analysis. *Alzheimers Dement.* 2013;9(1):63-75.e2. DOI 10.1016/j.jalz.2012.11.007.
- Saikia B., Buragohain L., Barua C.C., Sarma J., Tamuli S.M., Kalita D.J., Barua A.G., Barua I.C., Elancheran R. Evaluation of anti-amnesic effect of *Conyza bonariensis* in rats. *Indian J. Pharmacol.* 2022;54(2):102-109. DOI 10.4103/ijp.ijp_201_19.
- Shen L.L., Manucat-Tan N.B., Gao S.H., Li W.W., Zeng F., Zhu C., Wang J., Bu X.L., Liu Y.H., Gao C.Y., Xu Z.Q., Bobrovskaya L., Lei P., Yu J.T., Song W., Zhou H.D., Yao X.Q., Zhou X.F., Wang Y.J. The ProNGF/p75NTR pathway induces tau pathology and is a therapeutic target for FTLT-tau. *Mol. Psychiatry.* 2018;23(8):1813-1824. DOI 10.1038/s41380-018-0071-z.
- Shimada H., Minatani S., Takeuchi J., Takeda A., Kawabe J., Wada Y., Mawatari A., Watanabe Y., Shimada H., Higuchi M., Suhara T., Tomiyama T., Itoh Y. Heavy tau burden with subtle amyloid β accumulation in the cerebral cortex and cerebellum in a case of familial Alzheimer's disease with APP Osaka mutation. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(12):4443. DOI 10.3390/ijms21124443.
- Slotnick B.M., Leonard C.M. A Stereotaxic Atlas of the Albino Mouse Forebrain. Rockville, Maryland: U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, 1975.
- Tapia-Rojas C., Cabezas-Opazo F., Deaton C.A., Vergara E.H., Johnson G.V.W., Quintanilla R.A. It's all about tau. *Prog. Neurobiol.* 2019;175:54-76. DOI 10.1016/j.pneurobio.2018.12.005.
- Tu Y., Chen Q., Guo W., Xiang P., Huang H., Fei H., Chen L., Yang Y., Peng Z., Gu C., Tan X., Liu X., Lu Y., Chen R., Wang H., Luo Y., Yang J. MiR-702-5p ameliorates diabetic encephalopathy in db/db mice by regulating 12/15-LOX. *Exp. Neurol.* 2022;358:114212. DOI 10.1016/j.expneurol.2022.114212.
- Wang Y., Zhang J.J., Hou J.G., Li X., Liu W., Zhang J.T., Zheng S.W., Su F.Y., Li W. Protective effect of ginsenosides from stems and leaves of *Panax ginseng* against scopolamine-induced memory damage via multiple molecular mechanisms. *Am. J. Chin. Med.* 2022;50(4):1113-1131. DOI 10.1142/S0192415X22500458.
- Wegmann S., Biernat J., Mandelkow E. A current view on Tau protein phosphorylation in Alzheimer's disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2021;69:131-138. DOI 10.1016/j.conb.2021.03.003.
- Wei Y.D., Chen X.X., Yang L.J., Gao X.R., Xia Q.R., Qi C.C., Ge J.F. Resveratrol ameliorates learning and memory impairments induced by bilateral hippocampal injection of streptozotocin in mice. *Neurochem. Int.* 2022;159:105385. DOI 10.1016/j.neuint.2022.105385.
- Xie Y., Seawell J., Boesch E., Allen L., Suchy A., Longo F.M., Meeker R.B. Small molecule modulation of the p75 neurotrophin receptor suppresses age- and genotype-associated neurodegeneration in HIV gp120 transgenic mice. *Exp. Neurol.* 2021;335:113489. DOI 10.1016/j.expneurol.2020.113489.
- Yang T., Tran K.C., Zeng A.Y., Massa S.M., Longo F.M. Small molecule modulation of the p75 neurotrophin receptor inhibits multiple amyloid beta-induced tau pathologies. *Sci. Rep.* 2020;10(1):20322. DOI 10.1038/s41598-020-77210-y.
- Yuan M., Wang Y., Wen J., Jing F., Zou Q., Pu Y., Pan T., Cai Z. Dietary salt disrupts tricarboxylic acid cycle and induces tau hyperphosphorylation and synapse dysfunction during aging. *Aging Dis.* 2022;13(5):1532-1545. DOI 10.14336/AD.2022.0220.
- Zhang H., Lu F., Liu P., Qiu Z., Li J., Wang X., Xu H., Zhao Y., Li X., Wang H., Lu D., Qi R. A direct interaction between RhoGDI α /Tau alleviates hyperphosphorylation of Tau in Alzheimer's disease and vascular dementia. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2022. DOI 10.1007/s11481-021-10049-w.
- Zhao H.L., Cui S.Y., Qin Y., Liu Y.T., Cui X.Y., Hu X., Kurban N., Li M.Y., Li Z.H., Xu J., Zhang Y.H. Prophylactic effects of sporodermin-removed *Ganoderma lucidum* spores in a rat model of streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease. *J. Ethnopharmacol.* 2021;269:113725. DOI 10.1016/j.jep.2020.113725.

ORCID ID

A.Ya. Rodnyy orcid.org/0000-0001-5739-4176
D.V. Bazovkina orcid.org/0000-0001-5786-7965
V.S. Naumenko orcid.org/0000-0001-7196-4729

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 22-15-00011. Содержание животных осуществлялось за счет средств бюджетного проекта FWNR-2022-0010.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.11.2022. После доработки 16.01.2023. Принята к публикации 17.01.2023.