

Экспрессия молекул — компонентов инсулин-опосредованной сигнальной трансдукции в клетках головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера

Я.В. Горина¹, Ю.К. Комлева¹, О.Л. Лопатина¹, А.И. Черных², А.Б. Салмина¹

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия;

²Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона, Красноярск, Россия

Введение. Риск развития болезни Альцгеймера (БА) повышается при наличии церебральной инсулинорезистентности, которая может быть вызвана нарушением функции сосудистой системы головного мозга, а также оказывать прямое влияние на агрегацию β -амилоида или гиперфосфорилирование тау-белка.

Цель исследования — изучение экспрессии молекул — компонентов инсулин-опосредованной сигнальной трансдукции (IRS1, GSK-3 β и PKC) в клетках головного мозга при экспериментальной БА.

Материалы и методы. Опыты проведены на 4-месячных мышах-самцах линий C57BL/6 и B6.129S6-Nlrp3tm1Bhk/JJ (NLRP3-нокаутных); по 5 особей в группе. Мышей опытных групп путем введения β -амилоидного пептида моделировали БА; мыши контрольных групп были ложнооперированными. Экспрессию IRS1, GSK-3 β и PKC в миндалевидном теле головного мозга изучали методом иммуногистохимии.

Результаты. У мышей линии C57BL/6 с БА экспрессия IRS1 была снижена по сравнению с ложнооперированными ($0,62 \pm 0,13$ и $0,89 \pm 0,17$; $p=0,045$), тогда как у NLRP3-нокаутных животных такого действия β -амилоида не обнаружено. Экспрессия GSK3- β увеличивалась у мышей линии C57BL/6 с БА ($0,60 \pm 0,12$) по сравнению как с контрольной группой ($0,20 \pm 0,02$; $p<0,0001$), так и с NLRP3-нокаутными мышами с БА ($0,27 \pm 0,08$; $p<0,0001$). Экспрессия PKC у мышей линии C57BL/6 с БА снижалась ($0,52 \pm 0,14$) по сравнению с NLRP3-нокаутными мышами с БА ($0,89 \pm 0,18$; $p<0,05$) и с контрольной группой ($0,84 \pm 0,12$; $p<0,05$).

Заключение. Развитие нейродегенерации альцгеймеровского типа сопровождается нарушением экспрессии IRS1 и GSK3- β , что ассоциировано с нарушением передачи сигнала по PKC-пути. Подавление нейровоспаления за счет делеции инфламмасом NLRP3 имеет протективное значение при развитии БА.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, инсулинорезистентность, IRS1, GSK3- β , PKC.

Адрес для корреспонденции: 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1. ФГБОУ ВО КГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого. E-mail: yana_20@bk.ru. Горина Я.В.

Для цитирования: Горина Я.В., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Черных А.И., Салмина А.Б. Экспрессия молекул — компонентов инсулин-опосредованной сигнальной трансдукции в клетках головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2019; 13(4): 28–37.

DOI: 10.25692/ACEN.2019.4.5

Molecular expression of insulin signal transduction components in brain cells in an experimental model of Alzheimer's disease

Yana V. Gorina¹, Yuliya K. Komleva¹, Olga L. Lopatina¹, Anatolii I. Chernykh², Alla B. Salmina¹

¹Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

²Krasnoyarsk City Hospital No. 20 named after I.S. Berzon, Krasnoyarsk, Russia

Introduction. The risk of Alzheimer's disease (AD) is increased with cerebral insulin resistance, which may be caused by the impaired function of the cerebrovascular system, and may also have a direct effect on β -amyloid aggregation and Tau protein phosphorylation.

Aim. To study the molecular expression of insulin signal transduction components (IRS1, GSK3 β and PKC) in the brain cells in an experimental model of AD.

Materials and methods. Experiments were conducted on 4-month-old C57BL/6 and B6.129S6-Nlrp3tm1Bhk/JJ male mice (NLRP3 knockout mice) with 5 animals in each group. AD was modelled in the experimental group of mice by administering β -amyloid; mice in the control group received sham surgery. IRS1, GSK3B and PKC expression in the amygdala was studied using immunohistochemistry methods.

Results. The C57BL/6 mice with AD had reduced IRS1 expression compared with the mice who received sham surgery (0.62 ± 0.13 and 0.89 ± 0.17 ; $p = 0.045$), while the β -amyloid did not produce the same result in NLRP3 knockout mice. GSK3B expression was increased in C57BL/6 mice with AD (0.60 ± 0.12) when compared with both the control group (0.20 ± 0.02 ; $p < 0.0001$) and the NLRP3 knockout mice with AD (0.27 ± 0.08 ; $p < 0.0001$). PKC expression in C57BL/6 mice with AD was reduced (0.52 ± 0.14) when compared with the NLRP3 knockout mice with AD (0.89 ± 0.18 ; $p < 0.05$) and the control group (0.84 ± 0.12 ; $p < 0.05$).

Conclusion. The development of Alzheimer type-neurodegeneration is accompanied by disruptions in IRS1 and GSK3B expression, which is associated with impaired signal transmission along the PKC pathway. The suppression of neuroinflammation through NLRP3 inflammasome deletion has a protective effect in AD.

Keywords: Alzheimer's disease, insulin resistance, IRS1, GSK3B, PKC.

For correspondence: 660022, Russia, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka str., 1. Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky. E-mail: yana_20@bk.ru. Горина Я.В.

For citation: Gorina Ya.V., Komleva Yu.K., Lopatina O.L., Chernykh A.I., Salmina A.B. [Molecular expression of insulin signal transduction components in brain cells in an experimental model of Alzheimer's disease]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2019; 13(4): 28–37. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2019.4.5

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) — наиболее распространенное хроническое нейродегенеративное заболевание, приводящее к нейропсихиатрическим расстройствам и угнетению познавательной деятельности. Данный тип деменции характеризуется накоплением в головном мозге β -амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков [1, 2].

Факторы риска, способствующие запуску и прогрессированию БА, разнообразны: генетические факторы, митохондриальная дисфункция, окислительный стресс, факторы окружающей среды, нарушение энергетического обмена [3, 4].

Недавние клинические исследования показали, что БА развивается на фоне таких метаболических нарушений, как ожирение, сахарный диабет 2-го типа и атеросклероз [5], что свидетельствует о том, что факторы риска развития БА не ограничиваются центральной нервной системой, а включают системные метаболические нарушения.

Корреляция между когнитивной дисфункцией и нарушением обмена веществ долго не обнаруживалась. Однако все больше эпидемиологических данных подтверждали эту важную взаимосвязь [6, 7], а экспериментальные исследования показали участие в развитии БА маркеров метаболической дисрегуляции, в частности маркеров инсулинорезистентности [8–10].

За последнее десятилетие накопленные экспериментальные данные подтвердили, что головной мозг чувствителен к инсулину. Известно, что как рецептор инсулина (IR), так и родственные рецепторы инсулиноподобного фактора роста 1 и 2 (IGF1-R, IGF2-R) экспрессируются не только в гипоталамусе — области мозга, регулирующей функции нервной и эндокринной системы, но также в коре, гиппокампе, таламусе, обонятельной луковице, мозжечке, половом теле, среднем мозге и стволе мозга [11].

Передача сигналов инсулина и IGF осуществляется при непосредственном участии семейства белков субстрата инсулинового рецептора (IRS) для интеграции внеклеточных сигналов во внутриклеточные ответы, что приводит к ре-

ализации клеточных эффектов. У человека и млекопитающих есть два основных белка IRS (IRS1 и IRS2), которые широко экспрессируются в большинстве тканей, тогда как белок IRS4 в основном находится в гипоталамусе [12].

В последнее время интраназальное введение инсулина успешно применяется для улучшения некоторых когнитивных функций: декларативной памяти (кратковременной или долговременной), беглости речи, внимания, пространственной памяти и др. Однако остается не до конца ясным, за счет каких механизмов реализуется данный терапевтический подход: путем компенсации нарушенной инсулин-сигнализации, пониженного уровня инсулина в мозге или сниженного поступления инсулина в мозг [13].

Известно, что инсулин модифицирует нейрональную активность, тем самым способствуя синаптической пластичности, а также улучшает функцию памяти в мозге млекопитающих [14, 15].

Передача сигналов инсулина нарушена как в мозге пациентов с БА, так и у животных с экспериментальной моделью хронической нейродегенерации [8, 16]. Нейрональная резистентность к инсулину в первичных культурах нейронов гиппокампа может быть индуцирована олигомерами β -амилоида, а у мышей и обезьян — путем их интрацеребровентрикулярной инъекции, что приводит к активации рецепторов фактора некроза опухоли- α (TNF- α) и ингибированию субстрата инсулинового рецептора (IRS1), вызывающая синаптическую дисфункцию [17, 18].

Примечательно, что при прогрессировании БА повышается уровень провоспалительных цитокинов, в частности TNF- α , что активирует c-Jun N-терминальную киназу, приводя к ингибированию IRS1 в гиппокампе трансгенных мышей после интрацеребровентрикулярных инъекций олигомеров β -амилоида [19].

У пациентов с БА описаны также патологические изменения инсулин-сигнальной трансдукции — снижение уровня инсулина и инсулиноподобных факторов роста (IGF-1 и -2), что сопровождается снижением экспрессии мРНК IR, фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и протеинкиназы В (Akt) [20]. Эти наблюдения впоследствии были подтверж-

дены исследованиями, демонстрирующими прогрессивное повышение фосфорилирования IRS1 в сериновых остатках, сопровождаемое активацией гликогенсинтазы киназы-3-бета (GSK-3beta), IκB киназы, c-Jun N-терминальной киназы, мишени рапамицина млекопитающих и протеинкиназы ζ/λ у пациентов по мере развития БА [8, 21].

Известно, что врожденная иммунная система и нейровоспаление оказывают важное влияние на патогенез многих нейродегенеративных заболеваний, включая БА [22, 23]. В фокусе внимания ученых находятся мультитебелковые комплексы — инфламмосомы (NLRP1, NLRP2 и NLRP3), участвующие в регулировании процесса воспаления. Агрегация β-амилоида приводит к активации инфламмосом, которые через каспаза-1-сигнальный путь инициируют продукцию провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1β и -18 [24].

У пациентов с БА также увеличен уровень экспрессии генов *NLRP1* и *NLRP3*, что, в свою очередь, приводит к увеличению экспрессии провоспалительных цитокинов [25].

В дополнение к этому церебральная инсулинорезистентность может способствовать микроглиальной секреции провоспалительных цитокинов интерлейкина-1, -6 и TNF-α, активированных β-амилоидом [26]. Это может играть важную роль в патогенезе БА, поскольку у NLRP3-нокаутных мышей, несущих гены мутации (APP/PS1), связанные с генетической формой БА, показано снижение активации каспазы-1, интерлейкина-1β и отложения β-амилоида, а также не выявлено выраженных нарушений пространственной памяти и когнитивных функций [27].

В другом исследовании установлено влияние инфламмосом NLRP3 на развитие инсулинорезистентности, индуцированной диетой с повышенным содержанием жиров, а именно, у NLRP3-нокаутных мышей наблюдалась повышенная чувствительность к инсулину по сравнению с контрольной группой [28].

Все вышесказанное подчеркивает физиологическую важность нарушения передачи сигналов инсулина в головном мозге при БА, однако точные молекулярные механизмы, лежащие в основе этого процесса, до конца не ясны.

Цель настоящего исследования — изучение экспрессии молекул — компонентов инсулин-опосредованной сигнальной трансдукции (IRS1, GSK3-beta и PKC) в миндалевидном теле при экспериментальной БА.

Материалы и методы

Моделирование нейродегенерации

Опыты проведены на 4-месячных мышках-самцах линий C57BL/6 (1-я и 2-я группы) и B6.129S6-Nlrp3tm1Bhk/JJ (животные с исключенным провоспалительным действием инфламмосом NLRP3; 3-я и 4-я группы); по 5 особей в группе.

У мышей опытных групп (1-я и 3-я) моделировали БА путем введения 1 мкл β-амилоидного пептида (Aβ₁₋₄₂) в СА1 зону гиппокампа билатерально согласно стереотаксическим координатам: ML ±1,3 мм, AP -2,0 мм. DV -1,9 мм [29]. Раствор Aβ₁₋₄₂ концентрацией 50 мкМ готовили в фосфатно-солевом буфере с последующей агрегацией при 37°C

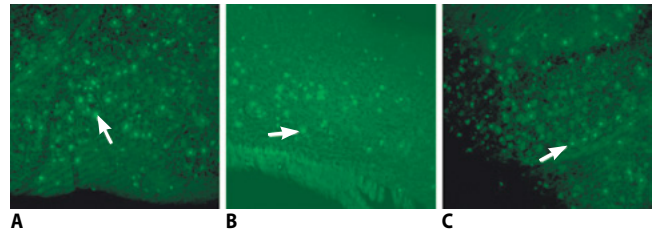


Рис. 1. Визуализация β-амилоидных бляшек в миндалевидном теле головного мозга животных с экспериментальной моделью БА. А — миндалевидное тело; В — кора; С — гиппокамп

Fig. 1. Visualization of β-amyloid plaques in the amygdala of animals with an experimental model of AD. А — amygdala; В — body; С — hippocampus

в течение 7 дней в термостате [30]. Корректность введения Aβ₁₋₄₂ в СА1 зону гиппокампа оценивали методом иммуногистохимии с помощью окраски тиюфлавином S [31].

Мышам контрольных групп (2-я и 4-я) аналогичным образом вводили фосфатно-солевой буфер (PBS).

На 7-е сутки после оперативного вмешательства оценивали развитие признаков БА (накопление β-амилоидных бляшек) [32]. После введения амилоида в ткани головного мозга наблюдали флуоресцирующие амилоидные бляшки зеленого цвета (рис. 1).

Когнитивные функции у животных оценивали с использованием батареи нейроповеденческих тестов, результаты по которым были представлены нами ранее [33, 34].

Исследования выполняли после утверждения заявки и протокола на использование лабораторных животных для исследования на заседании биоэтической комиссии по работе с животными при локальном этическом комитете ИПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» (выписка из протокола № 3 от 08.10.2018 г.).

Иммуногистохимическое исследование

Экспрессию маркеров инсулинорезистентности исследовали с использованием метода непрямой иммуногистохимии для свободно плавающих срезов [32, 35].

Полученные с помощью микротомы «Thermo Scientific Microm HM 650» срезы толщиной 50 мкм промывали в PBS («Sigma»), блокировали 3% бычьим сывороточным альбумином («Sigma») в PBS и 1% Triton X-100 в течение 1 ч при комнатной температуре, затем инкубировали в течение ночи с первичными антителами IRS1, PKC, GSK3-beta, NeuN (все 1:1000, «Abcam») с 3% бычьим сывороточным альбумином в PBS и 0,2% Triton X-100 при 4°C. После инкубации с первичными антителами срезы промывали в PBS, инкубировали со вторичными антителами Goat anti-Rabbit Alexa Fluor 555 1:1000 («Abcam»), Goat anti-guinea pig Alexa Fluor 488 1:1000 («Thermo Fisher Scientific») в течение 2 ч при комнатной температуре, затем промывали в PBS. Наносили монтирующую жидкость Fluoroshield Mounting Medium with DAPI («Abcam»), накрывали срез покровным стеклом и микроскопировали с использованием конфокального микроскопа «Olympus FV 10i».

Экспрессию IRS1, GSK3-beta и PKC в нейронах миндалевидного тела головного мозга оценивали путем подсче-

та клеток в поле зрения. Локализацию IRS1, GSK3-beta и РКС определяли в цитоплазме NeuN+-нейронов миндалевидного тела.

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы «Statplus Professional 5.9.8.5».

В каждой группе было по 5 животных. От каждого животного отбирали по 3 среза головного мозга. Подсчет клеток в каждом срезе в области миндалевидного тела осуществляли в 3 полях зрения (100×100 мкм), в каждом поле зрения наблюдали 8–10 клеток. Общее количество клеток в выборке по каждой группе составило 350–400. Количество клеток в каждой выборке отвечало нормальному распределению (оценка по критерию Колмогорова–Смирнова).

В работе анализировали 4 группы животных: мыши-самцы линий C57BL/6 с введением $A\beta_{1-42}$ или PBS, мыши-самцы линии B6.129S6-Nlrp3tm1Bhk/JJ с введением $A\beta_{1-42}$ или PBS. Для сравнения четырех групп по двум независимым переменным («генотип», «инъекция β -амилоида или PBS»; зависимая переменная — количество клеток или колокализация) использовали двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Проводили оценку взаимного влияния факторов «генотип» и «инъекция β -амилоида или PBS» и оценивали независимые эффекты каждого из них. Последовательное попарное сравнение исследуемых групп проводили с помощью апостериорного t-теста Сидака.

Колокализацию оценивали по коэффициенту корреляции Пирсона (r_{xy}) для наблюдаемых в поле зрения клеток. Коэффициент корреляции Пирсона является одной из стандартных мер при определении колокализации изо-

бражений, он учитывает только сходство между формами, игнорируя при этом интенсивность сигналов. Его значения находятся в диапазоне от -1 до 1, где 0 указывает на отсутствие значимой корреляции, а -1 — на полную отрицательную корреляцию [36, 37].

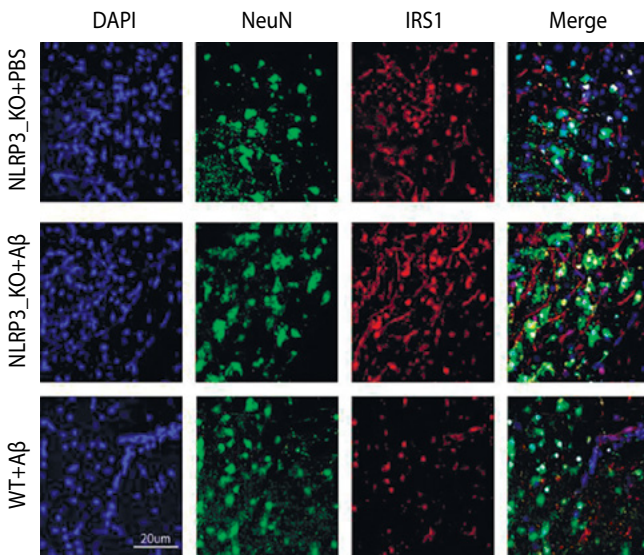
Различия принимали значимыми при $p \leq 0,05$. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее значение, m — стандартная ошибка среднего, p — уровень значимости.

Результаты

Полученные результаты свидетельствуют о различиях в экспрессии IRS1 при введении β -амилоида ($F(1,16)=12,86$; $p=0,0025$; двухфакторный ANOVA с t-тестом Сидака). Однако не выявлено влияния отдельно фактора «генотип» или взаимного влияния факторов «генотип» и «инъекция β -амилоида» (рис. 2, А, В).

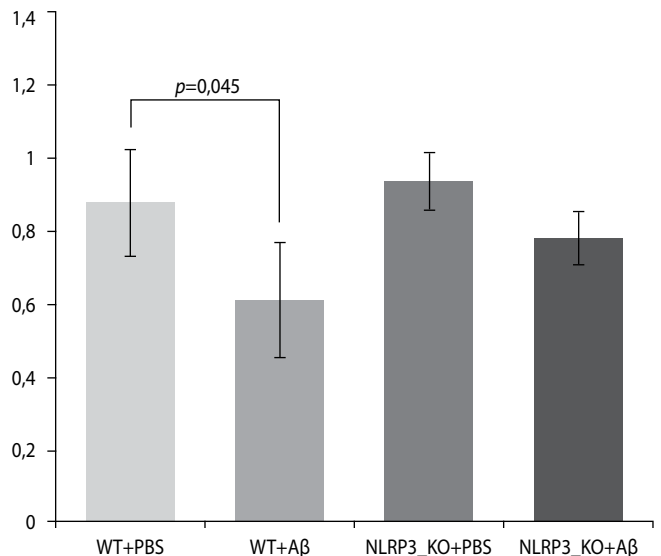
Так, при введении PBS для IRS1 с NeuN во 2-й группе $r_{xy}=0,89 \pm 0,17$, что статистически значимо не отличалось от 4-й группы ($r_{xy}=0,92 \pm 0,10$; $p > 0,05$; рис. 2, В). Однако введение β -амилоида в 1-й группе негативно сказалось на экспрессии IRS1 на нейронах ($r_{xy}=0,62 \pm 0,13$; $p=0,045$; рис. 2, В), но в 3-й группе не вызвало такого снижения (рис. 2, В).

В ходе исследования экспрессии GSK3-beta выявили статистически значимое взаимное влияние факторов «генотип» и «инъекция» ($F(1,16)=12,95$, $p=0,0024$), а также независимые эффекты факторов «генотип» ($F(1,16)=30,65$, $p < 0,0001$) и «инъекция» ($F(1,16)=55,86$, $p < 0,0001$; рис. 3) Так, введение PBS не влияло на экспрессию GSK3-beta в нейронах мышей 2-й ($0,20 \pm 0,02$) и 4-й групп ($0,13 \pm 0,07$; $p > 0,05$; рис. 3, В). Однако мы зафиксировали статистически значимое увеличение экспрессии GSK3-beta в зрелых



А
Рис. 2. Экспрессия IRS1 в нейронах миндалевидного тела головного мозга мышей экспериментальных групп.
А: маркер IRS1 — красный, NeuN — зеленый, DAPI-ядра — голубой; × 10;

В: коэффициент корреляции Пирсона IRS1+NeuN в 1, 3, 4-й группах. Двухфакторный ANOVA (влияние интрагиппокампаальной инъекции β -амилоида — $F(1,16)=12,86$, $p=0,0025$) с последующим t-тестом Сидака



В

Fig. 2. IRS1 expression in the amygdala neurons in mice in the experimental group.

A: IRS1 label — red, NeuN — green, DAPI nuclei — light blue; × 10;

B: Pearson's correlation coefficient for RSI+NeuN in groups 1, 3 and 4.

Two-way ANOVA (the effect of hippocampal injection of β -amyloid — $F(1,16)=12,86$, $p=0,0025$) with subsequent Sidak t-test

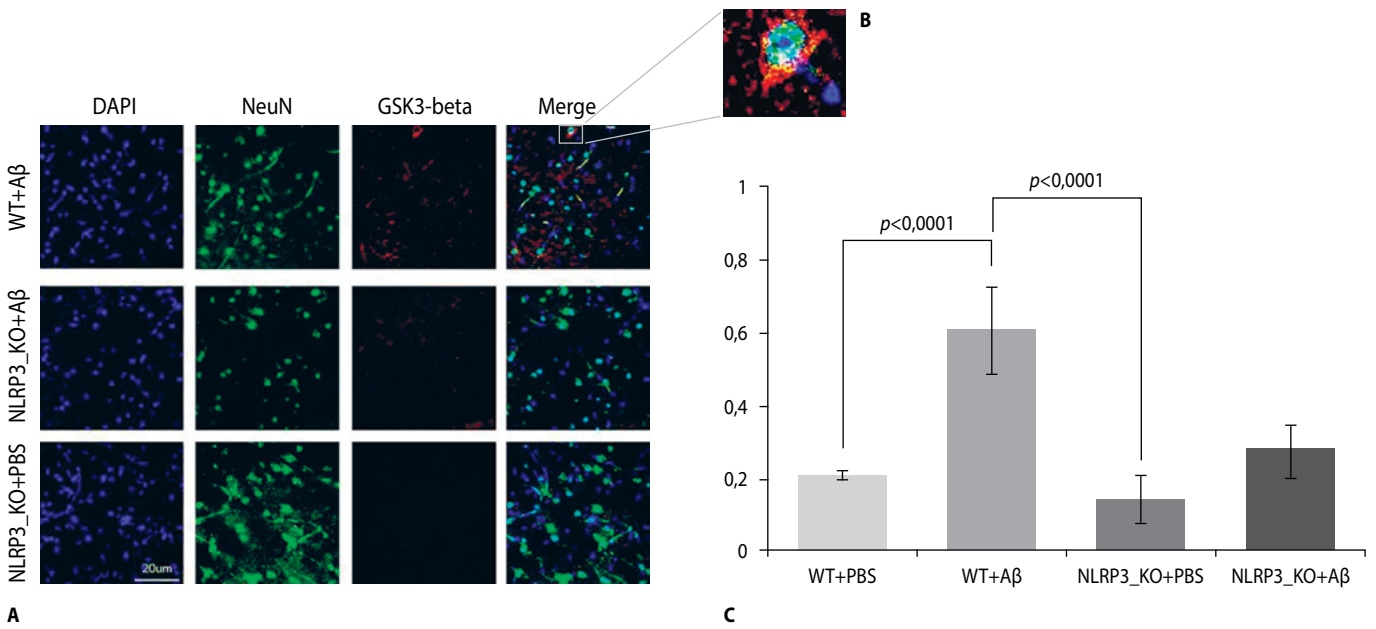


Рис. 3. Экспрессия GSK3-beta в нейронах миндалевидного тела головного мозга мышей экспериментальных групп.

A, B: Маркер GSK3-beta — красный, NeuN — зеленый, DAPI-ядра — голубой.

A: ×10; B: ×60.

C: коэффициент корреляции Пирсона GSK3-beta+NeuN в 1, 3, 4-й группах

Fig. 3. GSK3B expression in amygdala neurons in experimental group mice.

GSK3B label — red, NeuN — green, DAPI nuclei — light blue.

A: ×10; B: ×60.

C: Pearson's correlation coefficient for GSK3B+NeuN in groups 1, 3 and 4

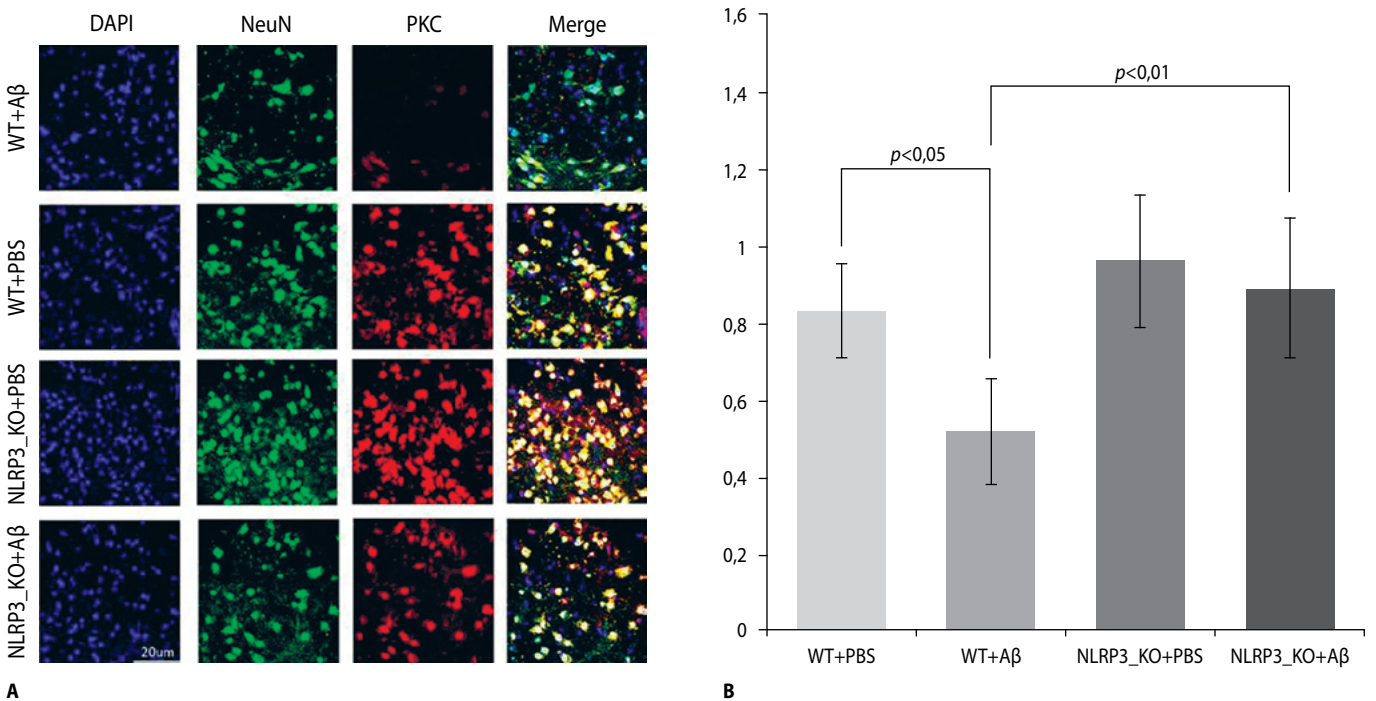


Рис. 4. Экспрессия PKC в нейронах миндалевидного тела головного мозга мышей экспериментальных групп.

A: маркер PKC — красный, NeuN — зеленый, DAPI-ядра — голубой; ×10.

B: коэффициент корреляции Пирсона PKC+NeuN в 1–4-й группах

Fig. 4. PKC expression in amygdala neurons in mice in the experimental groups.

A: PKC label — red, NeuN — green, DAPI nuclei — light blue; ×10;

B: Pearson's correlation coefficient for PKC+NeuN in groups 1–4

нейронах у мышей 1-й группы ($0,60 \pm 0,12$) по сравнению с мышами как 2-й группы ($0,20 \pm 0,02$; $p < 0,0001$), так и 3-й группы ($0,27 \pm 0,08$; $p < 0,0001$; рис. 3, В).

Интересно, что при моделировании БА у мышей 3-й группы экспрессия GSK3-beta ($0,27 \pm 0,08$) значимо не увеличивалась по сравнению с мышами 4-й группы ($0,13 \pm 0,07$; $p > 0,05$; рис. 3, В).

В результате исследования экспрессии РКС в нейронах мышей исследуемых групп нами выявлено статистически значимое влияние независимых эффектов факторов «инъекция» ($F(1,16)=7,98$, $p=0,0122$) и «генотип» ($F(1,16)=12,60$; $p=0,0027$; двухфакторный ANOVA с последующим t-тестом Сидака; рис. 4, А, В).

Так, коэффициент корреляции Пирсона РКС+NeuN в 4-й группе ($0,96 \pm 0,17$) статистически значимо не отличался от данных 2-й группы ($0,84 \pm 0,12$; $p > 0,05$; рис. 4, В). При этом мы установили статистически значимое уменьшение экспрессии РКС у мышей 1-й группы ($0,52 \pm 0,14$) по сравнению с мышами 3-й ($0,89 \pm 0,18$; $p < 0,01$) и 2-й групп ($0,84 \pm 0,12$; $p < 0,05$; рис. 4, В).

Обсуждение

В результате многолетних эпидемиологических исследований установлена четкая связь между инсулинорезистентностью и БА [38, 39]. Ранее считалось, что мозг нечувствителен к инсулину, однако в ходе проведения серии экспериментов стало известно, что мозг использует инсулин, доставляемый через гематоэнцефалический барьер или синтезируемый локально, путем транскрипции гена инсулина [40].

Связывание инсулина с внеклеточными α -субъединицами инсулинового рецептора вызывает конформационные изменения в молекуле, что приводит к аутофосфорилированию специфических остатков тирозина во внутриклеточных доменах [41]. После активации различные адаптеры и сигнальные белки, в частности IRS1, связываются с рецептором, чтобы инициировать внутриклеточный сигнальный каскад, и тем самым регулируют различные биологические функции [41, 42].

Ранее было продемонстрировано, что ангиотензин II индуцирует фосфорилирование IRS1 в Ser616 и Ser312, что приводит к его инактивации и, как следствие, ингибированию сигнального каскада инсулин–PI3K [43].

Кроме того установлено, что у пациентов с БА фосфорилированные формы IRS1 по остаткам серина локализируются диффузно в цитозоле внутри нейритных бляшек и окружающих нейрофибриллярных клубков, что свидетельствует об их прямом нейротоксическом эффекте [8].

В недавнем исследовании продемонстрировано, что pSer312–IRS1 и p-papTyr–IRS1 являются молекулами-маркерами БА [44], т.к. их наличие ясно показывает развитие инсулинорезистентности в головном мозге при хронической нейродегенерации альцгеймеровского типа. Фосфотип pSer312–IRS1 стимулирует расщепление IRS1 и приводит к его деградации [45], тогда как фосфотип p-papTyr–IRS1 индуцирует ответы, стимулируемые инсулином [46]. При этом у пациентов с БА выявлены более высокие уровни pSer312–IRS1, тогда как уровень p-papTyr–IRS1

был заметно снижен по сравнению с контрольной группой. Установлено также, что высокий уровень p-papTyr–IRS1 ассоциирован с меньшей атрофией головного мозга, в то время как высокий уровень pSer312–IRS1 — с ярко выраженной атрофией, что подтверждает их защитную и пагубную роли в патогенезе БА соответственно [44].

Ряд исследований свидетельствует о значимой роли нейровоспаления как одного из ключевых звеньев патогенеза БА [27, 47, 48]. Накопление в головном мозге β -амилоидных бляшек и нейрофибриллярных клубков вызывает врожденный и адаптивный иммунный ответ в головном мозге [49, 50], что приводит к активации инфламмасом NLRP3, которые инициируют высвобождение провоспалительного цитокина интерлейкина-1 β . Данный интерлейкин напрямую ингибирует каскад передачи сигналов инсулина путем фосфорилирования серинового остатка субстрата инсулинового рецептора и косвенно способствует выработке TNF- α — индуктора резистентности к инсулину [51–53].

Таким образом, мы выявили, что экспериментальная БА у мышей линии C57BL/6 (дикого типа) ассоциирована с пониженной экспрессией IRS1 в клетках нейрональной природы в миндалевидном теле головного мозга, что указывает на развитие церебральной инсулинорезистентности. Это может вызвать запуск каскада патологических реакций, приводящих к гибели нейронов, нарушению синаптической пластичности, митохондриальной дисфункции и, как следствие, прогрессированию заболевания [54, 55].

Однако установленное нами увеличение экспрессии IRS1 у NLRP3-нокаутных животных может свидетельствовать о том, что деляция инфламмасом NLRP3 имеет протекторное значение при развитии БА или умеренных когнитивных нарушений, сопровождаемых инсулинорезистентностью, за счет поддержания экспрессии IRS1 на высоком уровне.

На сегодняшний день известно, что GSK3-beta высоко экспрессируется в тканях мозга, особенно в нейронах, при этом его экспрессия в тканях развивающегося мозга намного выше, чем в тканях мозга взрослого человека [56]. Кроме того, данный фермент является одним из наиболее важных фосфорилированных киназ, играющих ключевую роль в регуляции уровня фосфорилированного τ -белка и стабилизации микротрубочек [57], а также в росте аксонов в развивающемся мозге [58].

На данный момент имеется противоречивая информация в литературе, каким образом изменяется экспрессия GSK3-beta в ткани головного мозга при развитии БА. GSK3-beta представляет собой киназу, участвующую в фосфорилировании τ -белка, и считается, что недостатки в сигнальной трансдукции с участием PI3K приводят к снижению передачи сигналов Akt, что имеет своим результатом снижение способности регулировать активность GSK3-beta, способствуя гиперфосфорилированию τ -белка [59], нейрональной дисфункции, нарушению синаптической пластичности и, в конечном итоге, ускоряя процесс развития нейродегенерации [60].

Тем не менее недавние наблюдения в определенной степени противоречат этому заключению [61] и показывают, что вместо подавления происходит усиление сигнального пути PI3K–Akt–мишень рапамицина млекопитающих в нейронах головного мозга при БА. Кроме того, при БА в головном мозге экспрессия GSK3-beta была уменьшена по срав-

нению с контролем, экспрессия Ser9 восстанавливалась, а Tyr216 фосфорилированной формы GSK3-beta — увеличивалась. Фосфорилирование Ser9 или Tyr216, соответственно, может ослаблять или стимулировать активность GSK3-beta [62]. Таким образом, по данным некоторых авторов, представления о том, что чрезмерная активация GSK3-beta приводит к гиперфосфорилированию τ -белка, не являются полностью доказанными, а терапевтические подходы, основанные на ингибировании/ослаблении GSK3-beta, продемонстрировали низкую клиническую эффективность при БА [63].

Вместе с тем, имеются данные о том, что активность GSK3-beta намного выше у пациентов с сахарным диабетом и умеренным когнитивным дефицитом, чем у когнитивно здоровых пациентов с сахарным диабетом, что указывает на то, что активация GSK3-beta может быть показателем когнитивных нарушений у пациентов с сахарным диабетом [64, 65].

Таким образом, выявленное нами увеличение экспрессии GSK3-beta в нейронах миндалевидного тела головного мозга животных дикого типа с экспериментальной БА, возможно, является следствием нарушения инсулин-сигнальных механизмов в головном мозге, реализуемых по PI3K-пути [66]. Это приводит к ингибированию пролиферации клеток, нарушению синаптической пластичности и выживания нейронов, апоптозу, что, в свою очередь, находит свое отражение в четко выраженных деструктивных изменениях процессов обучения и запоминания [67].

Известно, что несколько сигнальных путей регулируют патофизиологические процессы, вовлеченные в развитие или прогрессирование БА, одним из которых является путь РКС. РКС была названа «киназой памяти» и широко изучалась в связи с ее центральной ролью в формировании памяти как в нормальных, так и в патологических условиях, в частности при БА [68]. Так, РКС участвует в синаптическом ремоделировании, индукции синтеза белков и многих других важных для обучения и памяти процессах. Активация нейрональной РКС необходима для всех этапов обучения, включая приобретение, консолидацию и реконсолидацию памяти [69].

Ряд исследований показал, что активация РКС приводит к увеличению выработки нейропротективного растворимого белка-предшественника β -амилоида sAPP α и снижению уровня нейротоксичных видов β -амилоида как *in vitro*, так и *in vivo* [70]. Кроме того, активация РКС защищает нейроны от цитотоксичности β -амилоида [71], а также ингибирует гиперфосфорилирование τ -белка путем фосфорилирования и инактивации GSK3-beta [72]. Стоит отметить и тот факт, что активация РКС бростатином значительно снижает скорость продукции

β -амилоида, продлевая жизнь мышей с трансгенной моделью БА [73].

Показано, что РКС участвует в фосфорилировании субстратов инсулиновых рецепторов IRS1, необходимых для передачи сигналов инсулина [74]. В свою очередь белки IRS1 связываются с белками, содержащими домены Src-homology-2 (SH2), что приводит к стимуляции поглощения глюкозы, синтеза гликогена и белка, а также ингибированию глюконеогенеза [75]. Кроме того, РКС и инсулин могут активировать одинаковые сигнальные пути, в том числе через киназу Erk 1/2 MAP и стимуляцию src [76].

В последнее время стали доступны доказательства того, что РКС-путь играет решающую роль в синаптогенезе, лежащем в основе обучения и памяти. При этом РКС-путь находится в тесной взаимосвязи с инсулин-сигнальным путем, который также участвует в синаптогенезе и регуляции обучения и памяти [77, 78].

В совокупности, полученные нами данные свидетельствуют о том, что изменение экспрессии РКС в миндалевидном теле головного мозга при экспериментальной БА ассоциировано с формированием локальной инсулинорезистентности и определяется развитием нейровоспаления, опосредованного гиперэкспрессией NLRP3.

Заключение

Развитие нейродегенерации альцгеймеровского типа сопровождается нарушением экспрессии IRS1 и GSK3-beta, что ассоциировано с нарушением передачи сигнала по РКС-пути и свидетельствует о развитии локальной инсулинорезистентности в миндалевидном теле головного мозга. Подавление экспрессии инфламмасом, защищая нейроны головного мозга при БА, сдерживает процесс нейровоспаления, а также умеренных когнитивных нарушений, сопровождаемых инсулинорезистентностью, за счет модуляции экспрессии IRS1, GSK3-beta и РКС. Изучение молекулярных механизмов действия инсулина в нейрональных клетках является необходимым элементом стратегии профилактики и терапии нейродегенерации различного генеза.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare that there is no conflict of interest.*

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-6240.2018.7).

The study was funded by the grant of the President of the Russian Federation given to Russian Leading Research Teams (NII-6240.2018.7).

Список литературы

- Xu J., Murphy S.L., Kochanek K.D., Bastian B.A. Deaths: Final Data for 2013. *Natl Vital Stat Rep* 2016; 64: 100–119. PMID: 26905861.
- Reitz C., Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* 2014; 88: 640–651. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.12.024. PMID: 24398425.
- Cai Z., Zhao B., Ratka A. Oxidative stress and β -amyloid protein in Alzheimer's disease. *Neuromo Med* 2011; 13: 223–250. DOI: 10.1007/s12017-011-8155-9. PMID: 21901428.
- Ferrer I. Defining Alzheimer as a common age-related neurodegenerative process not inevitably leading to dementia. *Prog Neurobiol* 2012; 97: 38–51. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2012.03.005. PMID: 22459297.

References

- Xu J., Murphy S.L., Kochanek K.D., Bastian B.A. Deaths: Final Data for 2013. *Natl Vital Stat Rep* 2016; 64: 100–119. PMID: 26905861.
- Reitz C., Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* 2014; 88: 640–651. DOI: 10.1016/j.bcp.2013.12.024. PMID: 24398425.
- Cai Z., Zhao B., Ratka A. Oxidative stress and β -amyloid protein in Alzheimer's disease. *Neuromo Med* 2011; 13: 223–250. DOI: 10.1007/s12017-011-8155-9. PMID: 21901428.
- Ferrer I. Defining Alzheimer as a common age-related neurodegenerative process not inevitably leading to dementia. *Prog Neurobiol* 2012; 97: 38–51. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2012.03.005. PMID: 22459297.

5. Lutz M.W., Crenshaw D., Welsh-Bohmer K.A. et al. New genetic approaches to AD: lessons from APOE-TOMM40 *Phylogenetics Curr Neurol Neurosci Rep* 2016; 16: 48. DOI: 10.1007/s11910-016-0643-8. PMID: 27039903.
6. Crane P.K., Walker R., Hubbard R.A. et al. Glucose levels and risk of dementia. *N Engl J Med* 2013; 369: 540–548. DOI: 10.1056/NEJMoa1215740. PMID: 24195564.
7. Ikram M.A., Brusselle G.G.O., Murad S.D. et al. The Rotterdam Study: 2018 update on objectives, design and main results. *Eur J Epidemiol* 2017; 32: 807–850. DOI: 10.1007/s10654-338 017-0321-4. PMID: 29064009.
8. Talbot K., Wang H., Kazi H. et al. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest* 2012; 122: 1316–1338. DOI: 10.1172/JCI59903. PMID: 22476197.
9. De Felice F.G. Alzheimer's disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. *J Clin Invest* 2013; 123: 23485579. DOI: 10.1172/JCI64595. PMID: 23485579.
10. Boles A., Kandimalla R., Reddy P.H. Dynamics of diabetes and obesity: Epidemiological perspective. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2017; 1863: 1026–1036. DOI: 10.1016/j.bbdis.2017.01.016. PMID: 28130199.
11. Kleinridders A., Ferris H.A., Cai W., Kahn C.R. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes* 2014; 63: 2232–2243. DOI: 10.2337/db14-0568. PMID: 24931034.
12. Akintola A.A., van Opstal A.M., Westendorp R.G. et al. Effect of intranasally administered insulin on cerebral blood flow and perfusion; a randomized experiment in young and older adults. *Aging (Albany NY)* 2017; 9: 790–802. DOI: 10.18632/aging.101192. PMID: 28291957.
13. Schmitz L., Kuglin R., Bae-Gartz I. et al. Hippocampal insulin resistance links maternal obesity with impaired neuronal plasticity in adult offspring. *Psychoneuroendocrinology* 2018; 89: 46–52. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.12.023. PMID: 29324300.
14. Park C.R., Seeley R.J., Craft S., Woods S.C. Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiol Behav* 2000; 68: 509–514. DOI: 10.1016/S0031-9384(99)00220-6. PMID: 10713291.
15. Macklin L., Griffith C.M., Cai Y. et al. Glucose tolerance and insulin sensitivity are impaired in APP/PS1 transgenic mice prior to amyloid plaque pathogenesis and cognitive decline. *Exp Gerontol* 2017; 88: 9–18. DOI: 10.1016/j.exger.2016.12.019. PMID: 28025127.
16. Batista A.F., Forny-Germano L., Clarke J.R. et al. The diabetes drug liraglutide reverses cognitive impairment in mice and attenuates insulin receptor and synaptic pathology in a non-human primate model of Alzheimer's disease. *J Pathol* 2018; 245: 85–100. DOI: 10.1002/path.5056. PMID: 29435980.
17. De Felice F., Vieira N.N.M., Bomfim T. et al. Protection of synapses against Alzheimer's-linked toxins: insulin signaling prevents the pathogenic binding of Abeta oligomers. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106: 1971–1976. DOI: 10.1073/pnas.0901917106. PMID: 19188609.
18. Ma Q.-L., Yang F., Rosario E.R. et al. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *J Neurosci* 2009; 29: 9078–9089. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1071-09.2009. PMID: 19605645.
19. Steen E., Terry B.M., Rivera E.J. et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease — is this type 3 diabetes? *J Alzheimer's Dis* 2005; 7: 63–80. DOI: 10.3233/JAD-2005-7107. PMID: 15750215.
20. Bomfim T.R., Forny-Germano L., Sathler L.B. et al. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease-associated A β oligomers. *J Clin Invest* 2012; 122: 1339–1353. DOI: 10.1172/JCI57256DS1. PMID: 22476196.
21. Epelbaum S., Youssef I., Lacor P.N. et al. Acute amnesic encephalopathy in amyloid- β oligomer-injected mice is due to their widespread diffusion *in vivo*. *Neurobiol Aging* 2015; 36: 2043–2052. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.005. PMID: 25862419.
22. Sipos E., Kurunczi A., Kasza A. et al. Beta-amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience* 2007; 147: 28–36. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.04.011. PMID: 17499931.
23. Комлева Ю.А., Малиновская Н.А., Горина Я.В. и др. Экспрессия молекул CD38 и CD157 в ольфакторных луковицах головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Сибирское медицинское обозрение* 2015; 5: 45–49.
24. Encinas J.M., Enikolopov G. Identifying and quantitating neural stem and progenitor cells in the adult brain. *Methods Cell Biol* 2008; 85: 243–272. DOI: 10.1016/s0091-679x(08)85011-x. PMID: 18155466.
25. Ott A., Stolk R.P., van Harskamp F. et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology* 1999; 53: 1937–1942. DOI: 10.1212/WNL.53.9.1937. PMID: 10599761.
26. Kurochkin I.V., Guarnera E., Berezovsky I. N. Insulin-degrading enzyme in the fight against Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 2018; 39: 49–58. DOI: 10.1016/j.tips.2017.10.008. PMID: 29132916.
27. Gray S.M., Meijer R.I., Barrett E.J. Insulin regulates brain function, but how does it get there? *Diabetes* 2014; 63: 3992–3997. DOI: 10.2337/db14-0340. PMID: 25414013.
28. Sadagurski M., Dong X.C., Myers M.G. Jr., White M.F. Irs2 and Irs4 synergize in non-LepRb neurons to control energy balance and glucose homeosta-
5. Lutz M.W., Crenshaw D., Welsh-Bohmer K.A. et al. New genetic approaches to AD: lessons from APOE-TOMM40 *Phylogenetics Curr Neurol Neurosci Rep* 2016; 16: 48. DOI: 10.1007/s11910-016-0643-8. PMID: 27039903.
6. Crane P.K., Walker R., Hubbard R.A. et al. Glucose levels and risk of dementia. *N Engl J Med* 2013; 369: 540–548. DOI: 10.1056/NEJMoa1215740. PMID: 24195564.
7. Ikram M.A., Brusselle G.G.O., Murad S.D. et al. The Rotterdam Study: 2018 update on objectives, design and main results. *Eur J Epidemiol* 2017; 32: 807–850. DOI: 10.1007/s10654-338 017-0321-4. PMID: 29064009.
8. Talbot K., Wang H., Kazi H. et al. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest* 2012; 122: 1316–1338. DOI: 10.1172/JCI59903. PMID: 22476197.
9. De Felice F.G. Alzheimer's disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. *J Clin Invest* 2013; 123: 23485579. DOI: 10.1172/JCI64595. PMID: 23485579.
10. Boles A., Kandimalla R., Reddy P.H. Dynamics of diabetes and obesity: Epidemiological perspective. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2017; 1863: 1026–1036. DOI: 10.1016/j.bbdis.2017.01.016. PMID: 28130199.
11. Kleinridders A., Ferris H.A., Cai W., Kahn C.R. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes* 2014; 63: 2232–2243. DOI: 10.2337/db14-0568. PMID: 24931034.
12. Akintola A.A., van Opstal A.M., Westendorp R.G. et al. Effect of intranasally administered insulin on cerebral blood flow and perfusion; a randomized experiment in young and older adults. *Aging (Albany NY)* 2017; 9: 790–802. DOI: 10.18632/aging.101192. PMID: 28291957.
13. Schmitz L., Kuglin R., Bae-Gartz I. et al. Hippocampal insulin resistance links maternal obesity with impaired neuronal plasticity in adult offspring. *Psychoneuroendocrinology* 2018; 89: 46–52. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2017.12.023. PMID: 29324300.
14. Park C.R., Seeley R.J., Craft S., Woods S.C. Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiol Behav* 2000; 68: 509–514. DOI: 10.1016/S0031-9384(99)00220-6. PMID: 10713291.
15. Macklin L., Griffith C.M., Cai Y. et al. Glucose tolerance and insulin sensitivity are impaired in APP/PS1 transgenic mice prior to amyloid plaque pathogenesis and cognitive decline. *Exp Gerontol* 2017; 88: 9–18. DOI: 10.1016/j.exger.2016.12.019. PMID: 28025127.
16. Batista A.F., Forny-Germano L., Clarke J.R. et al. The diabetes drug liraglutide reverses cognitive impairment in mice and attenuates insulin receptor and synaptic pathology in a non-human primate model of Alzheimer's disease. *J Pathol* 2018; 245: 85–100. DOI: 10.1002/path.5056. PMID: 29435980.
17. De Felice F., Vieira N.N.M., Bomfim T. et al. Protection of synapses against Alzheimer's-linked toxins: insulin signaling prevents the pathogenic binding of Abeta oligomers. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106: 1971–1976. DOI: 10.1073/pnas.0901917106. PMID: 19188609.
18. Ma Q.-L., Yang F., Rosario E.R. et al. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *J Neurosci* 2009; 29: 9078–9089. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1071-09.2009. PMID: 19605645.
19. Steen E., Terry B.M., Rivera E.J. et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease — is this type 3 diabetes? *J Alzheimer's Dis* 2005; 7: 63–80. DOI: 10.3233/JAD-2005-7107. PMID: 15750215.
20. Bomfim T.R., Forny-Germano L., Sathler L.B. et al. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease-associated A β oligomers. *J Clin Invest* 2012; 122: 1339–1353. DOI: 10.1172/JCI57256DS1. PMID: 22476196.
21. Epelbaum S., Youssef I., Lacor P.N. et al. Acute amnesic encephalopathy in amyloid- β oligomer-injected mice is due to their widespread diffusion *in vivo*. *Neurobiol Aging* 2015; 36: 2043–2052. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.005. PMID: 25862419.
22. Sipos E., Kurunczi A., Kasza A. et al. Beta-amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience* 2007; 147: 28–36. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.04.011. PMID: 17499931.
23. Комлева Ю.А., Малиновская Н.А., Горина Я.В. и др. [Expression of CD38 and CD157 molecules in olfactory bulbs of brain in experimental Alzheimer's disease]. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* 2015; 5: 45–49. (In Russ.).
24. Encinas J.M., Enikolopov G. Identifying and quantitating neural stem and progenitor cells in the adult brain. *Methods Cell Biol* 2008; 85: 243–272. DOI: 10.1016/s0091-679x(08)85011-x. PMID: 18155466.
25. Ott A., Stolk R.P., van Harskamp F. et al. Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology* 1999; 53: 1937–1942. DOI: 10.1212/WNL.53.9.1937. PMID: 10599761.
26. Kurochkin I.V., Guarnera E., Berezovsky I. N. Insulin-degrading enzyme in the fight against Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 2018; 39: 49–58. DOI: 10.1016/j.tips.2017.10.008. PMID: 29132916.
27. Gray S.M., Meijer R.I., Barrett E.J. Insulin regulates brain function, but how does it get there? *Diabetes* 2014; 63: 3992–3997. DOI: 10.2337/db14-0340. PMID: 25414013.
28. Sadagurski M., Dong X.C., Myers M.G. Jr., White M.F. Irs2 and Irs4 synergize in non-LepRb neurons to control energy balance and glucose homeosta-

- sis. *Mol Metab* 2014; 3: 55–63. DOI: 10.1016/j.molmet.2013.10.004. PMID: 24567904.
29. Hubbard S.R. Structure and mechanism of the insulin receptor tyrosine kinase. In: Bradshaw R.A., Dennis E.A. (eds.) *Handbook of Cell Signaling*. N.Y.: Academic Press, 2009: 307–313. DOI: 10.1016/B978-0-12-374145-5.X0001-0.
30. Hale L.J., Coward R.J. Insulin signalling to the kidney in health and disease. *Clin Sci (Lond)* 2013; 124: 351–370. DOI: 10.1042/CS20120378. PMID: 23190266.
31. Kapogiannis D., Boxer A., Schwartz J.B. et al. Dysfunctionally phosphorylated type 1 insulin receptor substrate in neural-derived blood exosomes of pre-clinical Alzheimer's disease. *FASEB J* 2015; 29: 589–596. DOI: 10.1096/fj.14-262048. PMID: 25342129.
32. Andreozzi F., Laratta E., Sciacqua A. et al. Angiotensin II impairs the insulin signaling pathway promoting production of nitric oxide by inducing phosphorylation of insulin receptor substrate-1 on Ser312 and Ser616 in human umbilical vein endothelial cells. *Circ Res* 2004; 94: 1211–1218. DOI: 10.1161/01.RES.0000126501.34994.96. PMID: 15044323.
33. Pederson T.M., Kramer D.L., Rondinone C.M. Serine/threonine phosphorylation of IRS-1 triggers its degradation: possible regulation by tyrosine phosphorylation. *Diabetes* 2001; 50: 24–31. DOI: 10.2337/diabetes.50.1.24. PMID: 11147790.
34. Gual P., Le Marchand-Brustel Y., Tanti J.F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* 2005; 87: 99–109. DOI: 10.1016/j.biochi.2004.10.019. PMID: 15733744.
35. Woodgett J.R. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *EMBO J* 1990; 9: 2431–2438. PMID: 2164470.
36. Cho J.H., Johnson G.V. Primed phosphorylation of tau at Thr231 by glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) plays a critical role in regulating tau's ability to bind and stabilize microtubules. *J Neurochem* 2004; 88: 349–358. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02155.x. PMID: 14690523.
37. Takahashi M., Tomizawa K., Kato R. et al. Localization and developmental changes of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 beta in rat brain. *J Neurochem* 1994; 63: 245–255. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1994.63010245.x. PMID: 7515946.
38. Lahmy V., Meunier J., Malmström S. et al. Blockade of tau hyperphosphorylation and Aβ 1–42 generation by the aminotetrahydrofuran derivative ANAV-EX2-73, a mixed muscarinic and σ 1 receptor agonist, in a nontransgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 1706–1723. DOI: 10.1038/npp.2013.70. PMID: 23493042.
39. Hernandez F., Lucas J.J., Avila J. GSK3 and tau: two convergence points in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*. *J Alzheimers Dis* 2013; 33 Suppl 1: S141–S144. DOI: 10.3233/JAD-2012-129025. PMID: 22710914.
40. Tramutola A., Triplett J. C., Di Domenico F. et al. Alteration of mTOR signaling occurs early in the progression of Alzheimer disease (AD): analysis of brain from subjects with pre-clinical AD, amnesic mild cognitive impairment and late-stage AD. *J Neurochem* 2015; 133:739–749. DOI: 10.1111/jnc.13037. PMID: 25645581.
41. Griffin R. J., Moloney A., Kelliher M. et al. Activation of Akt/PKB, increased phosphorylation of Akt substrates and loss and altered distribution of Akt and PTEN are features of Alzheimer's disease pathology. *J Neurochem* 2005; 93: 105–117. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02949.x. PMID: 15773910.
42. Lovestone S., Boada M., Dubois B. et al. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 2015; 45: 75–88. DOI: 10.3233/JAD-141959. PMID: 25537011.
43. Xu Z.-P., Yang S.-L., Zhao S. et al. Biomarkers for early diagnostic of mild cognitive impairment in type-2 diabetes patients: a multicentre, retrospective, nested case–control study. *EBioMedicine* 2016; 5: 105–113. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.014. PMID: 27077117.
44. Maqbool M., Hoda N. GSK3 inhibitors in the therapeutic development of diabetes, cancer and Neurodegeneration: Past, present and future. *Curr Pharm Des* 2017; 23: 4332–4350. DOI: 10.2174/1381612823666170714141450. PMID: 28714403.
45. Zhang Y., Zhang Z., Wang H. et al. Neuroprotective effect of ginsenoside Rg1 prevents cognitive impairment induced by isoflurane anesthesia in aged rats via antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects mediated by the PI3K/AKT/GSK-3beta pathway. *Mol Med Rep* 2016; 14: 2778–2784. DOI: 10.3892/mmr.2016.5556. PMID: 27485139.
46. Lucke-Wold B.P., Turner R.C., Logsdon A.F. et al. Common mechanisms of Alzheimer's disease and ischemic stroke: the role of protein kinase C in the progression of age-related neurodegeneration. *J Alzheimer's Dis* 2015; 43, 711–724. DOI: 10.3233/JAD-141422. PMID: 25114088.
47. Nelson T.J., Sun M.K., Hongpaisan J., Alkon D.L. Insulin, PKC signaling pathways and synaptic remodeling during memory storage and neuronal repair. *Eur J Pharmacol* 2008; 585: 76–87. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.01.051. PMID: 18402935.
48. Alkon D.L., Sun M.-K., Nelson T.J. PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 51–60. DOI: 10.1016/j.tips.2006.12.002. PMID: 17218018.
49. Garrido J.L., Godoy J.A., Alvarez A. et al. Protein kinase C inhibits amyloid beta peptide neurotoxicity by acting on members of the Wnt pathway. *FASEB J* 2002; 16: 1982–1984. DOI: 10.1096/fj.02-0327fje. PMID: 12397090.
50. Isagawa T., Mukai H., Oishi K. et al. Dual effects of PKNalpha and protein kinase C on phosphorylation of tau protein by glycogen synthase kinase-3beta. *Bio-*
- sis. *Mol Metab* 2014; 3: 55–63. DOI: 10.1016/j.molmet.2013.10.004. PMID: 24567904.
29. Hubbard S.R. Structure and mechanism of the insulin receptor tyrosine kinase. In: Bradshaw R.A., Dennis E.A. (eds.) *Handbook of Cell Signaling*. N.Y.: Academic Press, 2009: 307–313. DOI: 10.1016/B978-0-12-374145-5.X0001-0.
30. Hale L.J., Coward R.J. Insulin signalling to the kidney in health and disease. *Clin Sci (Lond)* 2013; 124: 351–370. DOI: 10.1042/CS20120378. PMID: 23190266.
31. Kapogiannis D., Boxer A., Schwartz J.B. et al. Dysfunctionally phosphorylated type 1 insulin receptor substrate in neural-derived blood exosomes of pre-clinical Alzheimer's disease. *FASEB J* 2015; 29: 589–596. DOI: 10.1096/fj.14-262048. PMID: 25342129.
32. Andreozzi F., Laratta E., Sciacqua A. et al. Angiotensin II impairs the insulin signaling pathway promoting production of nitric oxide by inducing phosphorylation of insulin receptor substrate-1 on Ser312 and Ser616 in human umbilical vein endothelial cells. *Circ Res* 2004; 94: 1211–1218. DOI: 10.1161/01.RES.0000126501.34994.96. PMID: 15044323.
33. Pederson T.M., Kramer D.L., Rondinone C.M. Serine/threonine phosphorylation of IRS-1 triggers its degradation: possible regulation by tyrosine phosphorylation. *Diabetes* 2001; 50: 24–31. DOI: 10.2337/diabetes.50.1.24. PMID: 11147790.
34. Gual P., Le Marchand-Brustel Y., Tanti J.F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* 2005; 87: 99–109. DOI: 10.1016/j.biochi.2004.10.019. PMID: 15733744.
35. Woodgett J.R. Molecular cloning and expression of glycogen synthase kinase-3/factor A. *EMBO J* 1990; 9: 2431–2438. PMID: 2164470.
36. Cho J.H., Johnson G.V. Primed phosphorylation of tau at Thr231 by glycogen synthase kinase 3beta (GSK3beta) plays a critical role in regulating tau's ability to bind and stabilize microtubules. *J Neurochem* 2004; 88: 349–358. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02155.x. PMID: 14690523.
37. Takahashi M., Tomizawa K., Kato R. et al. Localization and developmental changes of tau protein kinase I/glycogen synthase kinase-3 beta in rat brain. *J Neurochem* 1994; 63: 245–255. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1994.63010245.x. PMID: 7515946.
38. Lahmy V., Meunier J., Malmström S. et al. Blockade of tau hyperphosphorylation and Aβ 1–42 generation by the aminotetrahydrofuran derivative ANAV-EX2-73, a mixed muscarinic and σ 1 receptor agonist, in a nontransgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 2013; 38: 1706–1723. DOI: 10.1038/npp.2013.70. PMID: 23493042.
39. Hernandez F., Lucas J.J., Avila J. GSK3 and tau: two convergence points in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*. *J Alzheimers Dis* 2013; 33 Suppl 1: S141–S144. DOI: 10.3233/JAD-2012-129025. PMID: 22710914.
40. Tramutola A., Triplett J. C., Di Domenico F. et al. Alteration of mTOR signaling occurs early in the progression of Alzheimer disease (AD): analysis of brain from subjects with pre-clinical AD, amnesic mild cognitive impairment and late-stage AD. *J Neurochem* 2015; 133:739–749. DOI: 10.1111/jnc.13037. PMID: 25645581.
41. Griffin R. J., Moloney A., Kelliher M. et al. Activation of Akt/PKB, increased phosphorylation of Akt substrates and loss and altered distribution of Akt and PTEN are features of Alzheimer's disease pathology. *J Neurochem* 2005; 93: 105–117. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2004.02949.x. PMID: 15773910.
42. Lovestone S., Boada M., Dubois B. et al. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 2015; 45: 75–88. DOI: 10.3233/JAD-141959. PMID: 25537011.
43. Xu Z.-P., Yang S.-L., Zhao S. et al. Biomarkers for early diagnostic of mild cognitive impairment in type-2 diabetes patients: a multicentre, retrospective, nested case–control study. *EBioMedicine* 2016; 5: 105–113. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.014. PMID: 27077117.
44. Maqbool M., Hoda N. GSK3 inhibitors in the therapeutic development of diabetes, cancer and Neurodegeneration: Past, present and future. *Curr Pharm Des* 2017; 23: 4332–4350. DOI: 10.2174/1381612823666170714141450. PMID: 28714403.
45. Zhang Y., Zhang Z., Wang H. et al. Neuroprotective effect of ginsenoside Rg1 prevents cognitive impairment induced by isoflurane anesthesia in aged rats via antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects mediated by the PI3K/AKT/GSK-3beta pathway. *Mol Med Rep* 2016; 14: 2778–2784. DOI: 10.3892/mmr.2016.5556. PMID: 27485139.
46. Lucke-Wold B.P., Turner R.C., Logsdon A.F. et al. Common mechanisms of Alzheimer's disease and ischemic stroke: the role of protein kinase C in the progression of age-related neurodegeneration. *J Alzheimer's Dis* 2015; 43, 711–724. DOI: 10.3233/JAD-141422. PMID: 25114088.
47. Nelson T.J., Sun M.K., Hongpaisan J., Alkon D.L. Insulin, PKC signaling pathways and synaptic remodeling during memory storage and neuronal repair. *Eur J Pharmacol* 2008; 585: 76–87. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.01.051. PMID: 18402935.
48. Alkon D.L., Sun M.-K., Nelson T.J. PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 51–60. DOI: 10.1016/j.tips.2006.12.002. PMID: 17218018.
49. Garrido J.L., Godoy J.A., Alvarez A. et al. Protein kinase C inhibits amyloid beta peptide neurotoxicity by acting on members of the Wnt pathway. *FASEB J* 2002; 16: 1982–1984. DOI: 10.1096/fj.02-0327fje. PMID: 12397090.
50. Isagawa T., Mukai H., Oishi K. et al. Dual effects of PKNalpha and protein kinase C on phosphorylation of tau protein by glycogen synthase kinase-3beta. *Bio-*

chem Biophys Res Commun 2000; 273: 209–212. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2926. PMID: 10873588.

51. Etcheberrigaray R., Tan M., Dewachter I. et al. Therapeutic effects of PKC activators in Alzheimer's disease transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11141–11146. DOI: 10.1073/pnas.0403921101. PMID: 15263077.

52. Nawaratne R., Gray A., Jørgensen C.H. et al. Regulation of insulin receptor substrate 1 pleckstrin homology domain by protein kinase C: role of serine 24 phosphorylation. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1838–1852. DOI: 10.1210/me.2005-0536. PMID: 16574739.

53. Taniguchi C.M., Emanuelli B., Kahn C.R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 85–96. DOI: 10.1038/nrm1837. PMID: 16493415.

54. Ito-Ishida A., Kakegawa W., Yuzaki M. ERK1/2 but not p38 MAP kinase is essential for the long-term depression in mouse cerebellar slices. *Eur J Neurosci* 2006; 24: 1617–1622. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2006.05055.x. PMID: 17004925.

55. Nelson T.J., Backlund Jr P.S., Alkon D.L. Hippocampal protein-protein interactions in spatial memory. *Hippocampus* 2004; 14: 46–57. DOI: 10.1002/hipo.10152. PMID: 15058482.

56. Hongpaisan J., Alkon D.L. A structural basis for enhancement of long-term associative memory in single dendritic spines regulated by PKC. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 19571–19576. DOI: 10.1073/pnas.0709311104. PMID: 18073185.

Поступила 25.04.2019

Принята в печать 11.10.2019

chem Biophys Res Commun 2000; 273: 209–212. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2926. PMID: 10873588.

51. Etcheberrigaray R., Tan M., Dewachter I. et al. Therapeutic effects of PKC activators in Alzheimer's disease transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11141–11146. DOI: 10.1073/pnas.0403921101. PMID: 15263077.

52. Nawaratne R., Gray A., Jørgensen C.H. et al. Regulation of insulin receptor substrate 1 pleckstrin homology domain by protein kinase C: role of serine 24 phosphorylation. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1838–1852. DOI: 10.1210/me.2005-0536. PMID: 16574739.

53. Taniguchi C.M., Emanuelli B., Kahn C.R. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 85–96. DOI: 10.1038/nrm1837. PMID: 16493415.

54. Ito-Ishida A., Kakegawa W., Yuzaki M. ERK1/2 but not p38 MAP kinase is essential for the long-term depression in mouse cerebellar slices. *Eur J Neurosci* 2006; 24: 1617–1622. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2006.05055.x. PMID: 17004925.

55. Nelson T.J., Backlund Jr P.S., Alkon D.L. Hippocampal protein-protein interactions in spatial memory. *Hippocampus* 2004; 14: 46–57. DOI: 10.1002/hipo.10152. PMID: 15058482.

56. Hongpaisan J., Alkon D.L. A structural basis for enhancement of long-term associative memory in single dendritic spines regulated by PKC. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 19571–19576. DOI: 10.1073/pnas.0709311104. PMID: 18073185.

Received 25.04.2019

Accepted 11.10.2019

Информация об авторах: Горина Яна Валерьевна — к.фарм.н., доц. каф. биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия;

Комлева Юлия Константиновна — к.м.н., доц. каф. биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия;

Лопатина Ольга Леонидовна — д.б.н., проф. каф. биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия;

Черных Анатолий Игоревич — врач, Красноярская межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона, Красноярск, Россия;

Салмина Алла Борисовна — д.м.н., проф., зав. каф. биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия.

Information about the authors: Yana V. Gorina, PhD (Pharm.), Assistant Professor, Department of biological chemistry with courses of medical, pharmaceutical and toxicological chemistry, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

Yuliya K. Komleva, PhD (Med.), Assistant Professor, Department of biological chemistry with courses of medical, pharmaceutical and toxicological chemistry, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

Olga L. Lopatina, D. Sci. (Biol.), Professor, Department of biological chemistry with courses of medical, pharmaceutical and toxicological chemistry, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

Anatolii I. Chernykh, surgeon, Krasnoyarsk Clinical Hospital N 20 named after I.S. Berzon, Krasnoyarsk, Russia;

Alla B. Salmina, D. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of biological chemistry with courses of medical, pharmaceutical and toxicological chemistry, Head of the Research Institute of Molecular Medicine and Pathological Biochemistry, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia.