



Современные технологии изучения клеточно-молекулярных механизмов болезни Альцгеймера

М.А. Мухамедьяров, Л.А. Ахмадиева, К.К. Нагиев, А.Л. Зефилов

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия

Аннотация

Болезнь Альцгеймера (БА) является самым распространённым нейродегенеративным заболеванием и самой частой причиной деменции. Данное заболевание характеризуется прогрессирующим угасанием когнитивных функций, связанным с развитием атрофии коры больших полушарий и гиппокампа. В обзоре рассмотрены ключевые факторы патогенеза БА: дисфункция синапсов, накопление и агрегация β -амилоидного пептида, фосфорилирование тау-белка с формированием нейрофибриллярных клубков, митохондриальная дисфункция, нейровоспаление и др. Рассмотрено влияние дисбиоза кишечника на развитие заболевания и показано, в какой степени двусторонняя коммуникация головного мозга и кишечника позволяет переосмыслить ряд патогенетических процессов, лежащих в основе БА. Описаны современные биомедицинские технологии, применяющиеся для изучения БА: создание трансгенных моделей заболевания, электрофизиологические методы, оптогенетика, омиксные технологии, нейровизуализационные подходы и др. Применение новейших биомедицинских технологий позволило добиться значительного прогресса в расширении представлений о патогенетических механизмах БА, а также создаёт основу для разработки современных подходов к терапии данного заболевания.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; β -амилоидный пептид; таупатия; митохондриальная дисфункция; нейровоспаление; дисбиоз кишечника; биомедицинские технологии

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России по договору № 1/22-3 о предоставлении гранта от 13.07.2022 г. в рамках Программы развития ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Адрес для корреспонденции: 420012, Казань, ул. Бултерова, д. 49. ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет». E-mail: marat.muhamedyarov@kazangmu.ru. Мухамедьяров М.А.

Для цитирования: Мухамедьяров М.А., Ахмадиева Л.А., Нагиев К.К., Зефилов А.Л. Современные технологии изучения клеточно-молекулярных механизмов болезни Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(2):75–83. DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.10>

Поступила 28.02.2023 / Принята в печать 03.04.2023 / Опубликовано 25.06.2023

State-of-the-Art Technologies for Studying Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Alzheimer's Disease

Marat A. Mukhamedyarov, Liaisan A. Akhmadieva, Kerim K. Nagiev, Andrey L. Zefirov

Kazan State Medical University, Kazan, Russia

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease and cause of dementia. It is associated with progressive cognitive decline due to the development of cortical and hippocampal atrophy.

We reviewed key factors in AD pathogenesis, such as synaptic dysfunction, accumulation and aggregation of amyloid beta ($A\beta$) peptide, tau phosphorylation causing neurofibrillary tangles, mitochondrial dysfunction, and neuroinflammation. We studied the dysbiosis role in AD development and demonstrated how much the bidirectional communication between the gut and brain sheds new light on some pathogenic processes underlying AD. We reviewed state-of-the-art biomedical technologies for studying AD: transgenic models, electrophysiological techniques, optogenetics, multi-omics approaches, neuroimaging, etc. New biomedical technologies significantly expanded our current knowledge of the AD pathogenesis and laid the groundwork for state-of-the-art treatment approaches.

Keywords: Alzheimer's disease; amyloid beta peptide; tauopathy; mitochondrial dysfunction; neuroinflammation; dysbiosis; biomedical technologies

Source of funding. This work was supported by grant from Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Grant Agreement No. 1/22-3 dated July 13, 2022) as part of Kazan State Medical University Development Program.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For correspondence: 420012, Russia, Kazan, Butlerova Str., 49, Kazan State Medical University.

E-mail: marat.muhamedyarov@kazangmu.ru. Mukhamedyarov M.A.

For citation: Mukhamedyarov M.A., Akhmadieva L.A., Nagiev K.K., Zefirov A.L. State-of-the-art technologies for studying cellular and molecular mechanisms underlying Alzheimer's disease. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2023;17(2):75–83. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.54101/ACEN.2023.2.10>

Received 28.02.2023 / Accepted 03.04.2023 / Published 25.06.2023

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) — это нейродегенеративное заболевание, характеризующееся потерей памяти и прогрессирующей нейрокогнитивной дисфункцией в результате атрофии гиппокампа и коры больших полушарий. В 1963 г. были описаны патогномичные признаки БА — сенильные бляшки и нейрофибрилярные клубки [1]. На 2020 г. в мире насчитывалось более 50 млн человек с БА; согласно прогнозам, к 2050 г. это число возрастёт до 152 млн, почти удваиваясь каждые 20 лет [2].

Существуют спорадические и семейные формы БА [3]. Предполагается, что спорадическая форма вызвана сложным взаимодействием генетических и средовых факторов, при этом значительная доля наследуемого риска спорадической БА может быть обусловлена аллелем $\epsilon 4$ гена аполипопротеина E (*ApoE- $\epsilon 4$*) [4]. Семейная форма обусловлена мутациями в генах *APP*, *PSEN1* и *PSEN2*, кодирующих, соответственно, белок-предшественник амилоида, пресенилин-1 и пресенилин-2 [5].

Факторы риска БА

Мутации *APP* приводят к увеличению продукции нейротоксичного β -амилоидного пептида (A β) [6]. Гены *PSEN1* и *PSEN2*, которые являются частью семейства γ -секретазы, также способствуют выработке более токсичных форм A β . В одном исследовании в 42 семьях с поздним началом заболевания было выяснено, что риск развития БА возрастает с 20% до 90% с увеличением числа аллелей *ApoE4*. Полногеномное ассоциативное исследование 74 046 человек выявило 11 генов, ассоциированных с БА: *ApoE*, *TREM2*, *CD33*, *BIN1*, *CLU*, *CR1*, *MS4*, *CD2AP*, *ABCA7*, *PICALM* и *EPHA1* [7].

Одним из главных факторов риска, с которым больше всего ассоциируются БА и деменция в целом, является пожилой возраст. По мере старения происходит изменение клеточного состава и нарушается баланс между про- и противовоспалительными ответами организма [8]. Несколько исследований показали, что повышенное артериальное давление у людей среднего возраста является фактором повышенного риска развития БА. Однако имеются данные о том, что низкое артериальное давление в позднем возрасте также может быть ассоциировано с развитием данного заболевания. Исследователи связали нарушение обмена холестерина с развитием БА. Когнитивные функции снижаются быстрее у пациентов с высоким уровнем холестерина [7]. Доказана также взаимосвязь БА с анемией [9].

Патогенетические механизмы БА

В основе патогенеза БА лежит сложное взаимодействие ряда клеточных и молекулярных процессов (рис. 1). Одними из ключевых факторов патогенеза БА являются про-

дукция и накопление A β — продукта фрагментации трансмембранного белка-предшественника амилоида [10]. На протяжении долгого времени A β рассматривался лишь в качестве фактора патогенеза нейродегенерации. Однако A β можно отнести к физиологическим пептидам. Он обнаруживается в пиколярных концентрациях в ликворе, плазме крови и тканях здоровых людей [11]. Исследования показали, что в нормальных физиологических условиях A β выполняет ряд важных нейропротективных функций [12]. Мономерные формы A β в очень низких концентрациях [11] способны ингибировать чрезмерную активацию синапсов и снижать эксайтотоксичность [11, 12]. Более того, A β может быть антибактериальным пептидом системы врождённого иммунитета в ЦНС [12]. Следовательно, избыточная продукция и накопление A β запускаются лишь при патологических условиях, что влечёт за собой развитие БА и ряда других нейродегенеративных заболеваний [11].

Тау-белок — это фосфопротеин, который кодируется путём альтернативного сплайсинга гена тау-белка, ассоциированного с микротрубочками [13]. При БА происходит полимеризация тау-белка в нерастворимые нейрофибрилярные клубки. Они обнаруживаются в голубом пятне, а также в трансэнториальной и энторинальной областях мозга. Полимеризация тау-белка, в отличие от накопления A β , происходит внутриклеточно. В коре головного мозга таупатия поражает в первую очередь глутаматергические проекционные нейроны, тогда как ГАМКергические вставочные нейроны остаются в значительной степени нетронутыми [7]. A β усиливает глутаматергическую нейротрансмиссию через воздействие на NMDA-рецепторы и увеличивает фосфорилирование тау [14]. Патологический тау-белок также может управлять расщеплением A β , улавливая в дендритах эндосомы с белком-предшественником амилоида и замыкая тем самым «порочный круг». Сама таупатия начинает развиваться примерно за 10 лет до появления бляшек A β . Согласно одной из гипотез агрегированный на микротрубочках патологический тау-белок вызывает «эндосомные пробки», которые могут управлять выработкой A β [15].

В ряде работ показано, что самые ранние стадии БА характеризуются появлением митохондриальной дисфункции, что связано с накоплением A β в этих органеллах [14, 16, 17]. Протеомные исследования продемонстрировали сниженную экспрессию белков окислительного фосфорилирования при БА [18]. Важным фактором патогенеза заболевания является также окислительный стресс [19].

Большое внимание при изучении БА в последние годы уделяется механизмам аутофагии [20]. Нарушение аутофагии рассматривается как один из ключевых факторов, способствующих развитию нейродегенерации [14]. Аутофагия является важным гомеостатическим механизмом в здоровых нейрональных клетках и элементом цитопротекторного ответа на стрессорные воздействия [21]. При БА имеет место

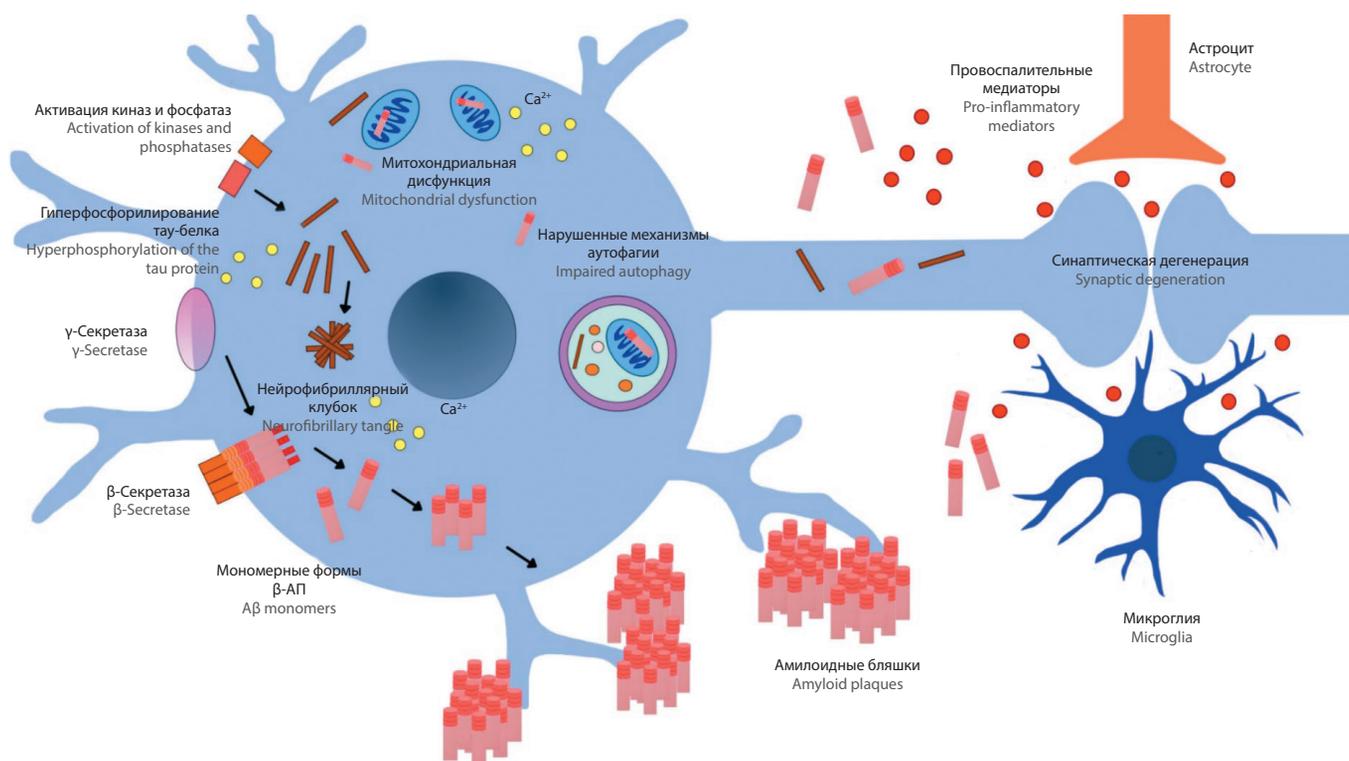


Рис. 1. Клеточно-молекулярные механизмы БА.

Fig. 1. Cellular and molecular mechanisms underlying AD.

взаимосвязь аутофагии и митохондриальной дисфункции [14, 21]. Так, БА характеризуется нарушением митофагии — избирательной формы аутофагии, что способствует накоплению повреждённых митохондрий в нейронах и развитию нейродегенеративного процесса [14]. Нарушение митофагии приводит к олигомеризации Aβ и α-синуклеина в мембране митохондрий, повышению её проницаемости и высвобождению цитохрома С, что способствует запуску нейродеструктивного каспазного каскада и нейровоспалению [21].

Нейровоспаление — это реакция иммунной системы, характеризующаяся активацией глиальных клеток и выработкой медиаторов воспаления. При БА нейровоспаление начинается уже на самых ранних стадиях заболевания. Активация микроглии может предшествовать накоплению Aβ и развитию таупатии в мозге пациентов с БА и животных с моделью данного заболевания [6, 14]. Понятие «активированная микроглия» предполагает запуск ряда динамических процессов в микроглии, включая изменения клеточной морфологии, секреторных медиаторов, пролиферативных реакций и поверхностного фенотипа, а именно поляризацию микроглии [22, 23].

Активация микроглии в ЦНС гетерогенна и происходит по двум противоположным путям: классическому или альтернативному. Классический путь активации запускает поляризацию микроглии по провоспалительному M1 фенотипу, когда как альтернативный путь — по противовоспалительному M2 фенотипу [23]. Изначально во время острого воспаления, вызванного накоплением Aβ, микроглия играет протективную роль и имеет M2 фенотип.

При БА постоянное накопление Aβ в веществе мозга приводит к развитию хронического воспаления, чрезмерной активации микроглии и её поляризации по фенотипу M1 [23, 24]. Чрезмерной активации микроглии способствуют много факторов, одним из которых является активация рецепторов комплемента, которая усугубляет процесс нейровоспаления [4]. В физиологических условиях микроглия и система комплемента играют важную роль в ремоделировании и элиминации синапсов [25]. Взаимосвязь микроглии с нейронами обеспечивает своевременное обнаружение сбоев и запуск ответной реакции в виде поглощения синапсов или быстрой элиминации апоптотических клеток и нефункционирующих синапсов [26]. В процессе развития головного мозга белки системы комплемента опсонизируют лишние синапсы, которые впоследствии фагоцитируются микроглией, экспрессирующей рецепторы комплемента [27].

Сформулирована гипотеза о том, что микроглия и система комплемента могут выступать в качестве ранних медиаторов потери синапсов и их дисфункции, которые возникают до образования сенильных бляшек [16]. Активация рецепторов комплемента микроглии при БА связана с возбуждением сигнального пути NF-κB [4]. Предполагается, что микроглия играет ключевую роль в опосредованной системой комплемента потере синапсов при БА: она является основным источником C1q в головном мозге, фагоцитирует синапсы при воздействии токсичного для синапсов Aβ и приводит астроциты в нейротоксическое состояние (реактивный астроглиоз) [16, 22, 28]. Реактивные астроциты A1 (по аналогии с провоспалительным фенотипом M1) теряют характерные для нормальных астроцитов функции и приобретают новые нейротоксические, впоследствии уничтожая

нейроны и зрелые олигодендроциты. При БА А1 астроциты могут вызывать нейродегенерацию не только за счёт секреции нейротоксина, но и за счёт высвобождения множества компонентов комплемента [29]. Индикатором активации астроцитов служит гиперэкспрессия низкомолекулярного белка S100b, синтез которого при БА может увеличиваться в несколько раз. При увеличении содержания белка S100B в астроцитах усиливается реактивный астроглиоз, что ведёт к нейровоспалению и нейрональной дисфункции [28].

Кальциевая гипотеза патогенеза БА была впервые выдвинута в 1989 г. Установлено, что нарушение гомеостаза кальция фиксируется в нейронах как при старении, так и у пациентов с БА. Дисбаланс влияет на выработку Аβ и гиперфосфорилирование тау-белка [30]. Появляется всё больше доказательств того, что мутации пресенилина, Аβ и гиперфосфорилированный тау-белок способствуют изменению гомеостаза кальция посредством нарушения нормального функционирования ряда транспортёров и каналов плазматической мембраны и мембраны эндоплазматического ретикулума, что, в частности, влияет на

перенос ионов кальция в митохондрии. К транспортёрам и каналам плазматической мембраны относятся кальций-транспортная АТФаза, натрий-кальциевый обменник или натрий-кальций-калиевый обменник, потенциал-управляемые, лиганд-управляемые и депо-управляемые каналы, тогда как к транспортной структуре эндоплазматического ретикулума относятся митохондриально-ассоциированные мембраны. В дополнение к этому олигомеры Аβ, вероятно, нарушают целостность липидного билayers плазматической мембраны с формированием пор [31].

Мутации пресенилина вызывают утечку кальция из эндоплазматического ретикулума в цитозоль [15]. Многие киназы могут быть активированы нарушением гомеостаза кальция, что стимулирует патологическое фосфорилирование тау-белка [30]. Уровень содержания кальция в цитозоле является одним из ключевых факторов, определяющих уязвимость микроокружения для аномального фосфорилирования тау-белка [15]. Однако аномальное накопление внутриклеточного тау-белка также может вызывать перегрузку ионами кальция, дефосфорилирование кальций/

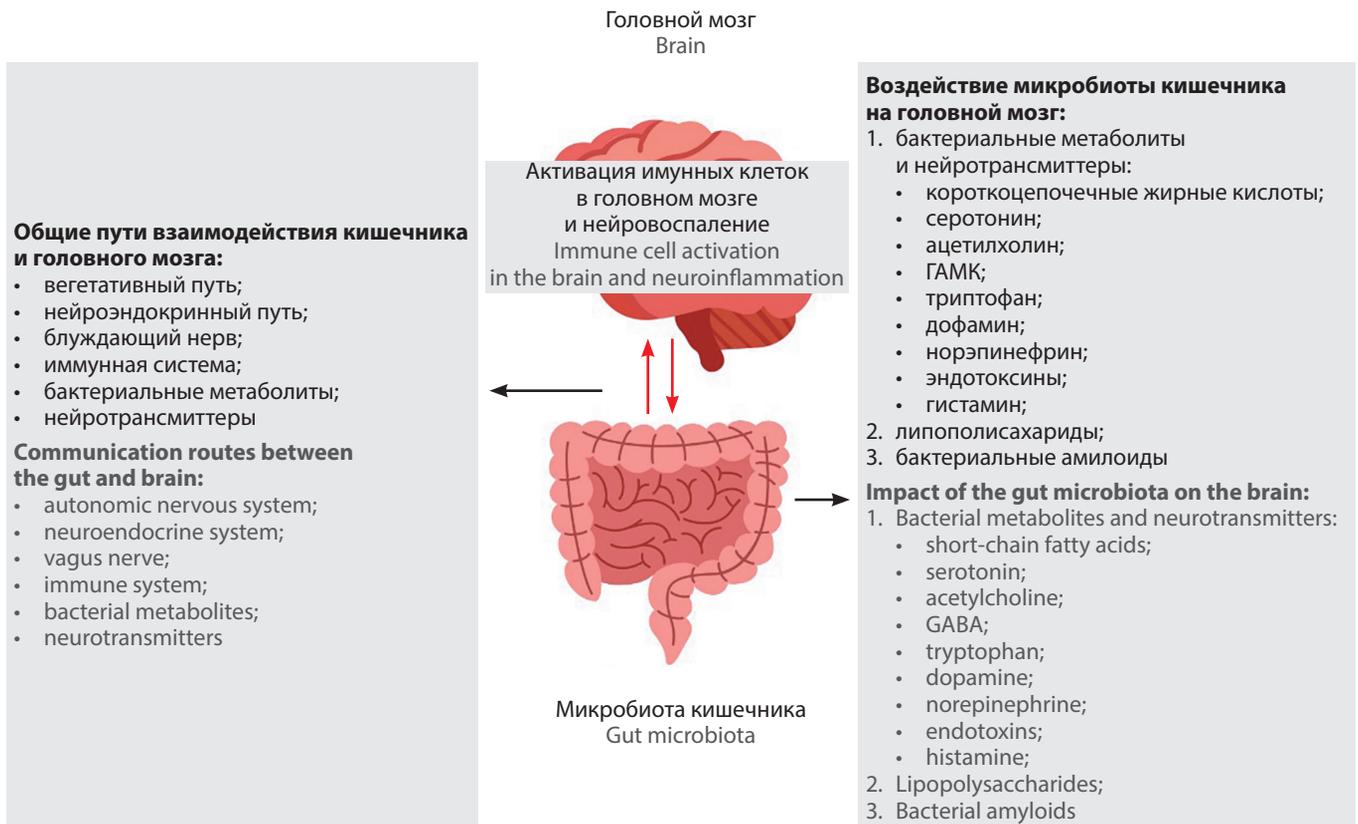


Рис. 2. Взаимодействие головного мозга и микробиоты кишечника при БА.

Ось «микробиота кишечника–мозг» сформирована разнообразными общими путями взаимодействия между кишечником и головным мозгом, которые могут работать независимо друг от друга или совместно. Кишечные микроорганизмы могут продуцировать метаболиты, липополисахариды и бактериальные амилоиды, влияющие на работу головного мозга. Посредством вегетативного, нейроэндокринного, метаболического и иммунологического путей при развитии дисбиоза кишечника в головном мозге запускаются процессы нейровоспаления, что способствует инициации и прогрессированию БА.

Fig. 2. Interaction between the brain and the gut microbiota in AD.

The gut microbiota–brain axis involves various communication routes between the gut and the brain that can operate together or independently. Metabolites, lipopolysaccharides, and bacterial amyloids produced by the gut microbiota can influence the brain functioning. In case of dysbiosis, such communication routes as autonomic nervous system, neuroendocrine system, metabolic pathway, and immune system trigger the brain neuroinflammation leading to AD onset and progression.

кальмодулинзависимой протеинкиназы IV типа и белка, связывающего элемент ответа цАМФ, за счёт активации кальциневрина, что говорит о взаимосвязи данных патологических процессов [30, 31]. Различные формы Аβ способны индуцировать массовое высвобождение ионов кальция из эндоплазматического ретикулума. Олигомеры Аβ могут нарушать гомеостаз эндоплазматического ретикулума косвенно — за счёт увеличения притока кальция из внеклеточного пространства, или напрямую — взаимодействуя с риадиноновым и инозитол-1,4,5-трифосфатным рецепторами, регуляторами высвобождения ионов кальция из внутриклеточных кальциевых депо [30, 31]. Увеличение содержания ионов кальция в цитозоле может стимулировать выработку Аβ [30]. Следовательно, накопление Аβ и дисбаланс ионов кальция — это два взаимодействующих процесса. При этом кальций активирует открытие митохондриальной кальций-зависимой поры со стороны матрикса, но блокирует её с наружной стороны митохондриальной мембраны [32]. Открытие митохондриальной кальций-зависимой поры происходит при усилении работы митохондриально-ассоциированных мембран, которые увеличивают перенос ионов кальция из эндоплазматического ретикулума в митохондрии. Этот процесс приводит к увеличению содержания ионов кальция в цитозоле и, следовательно, к нейрональной дисфункции, апоптозу и некрозу [31].

В последние годы появились данные о взаимосвязи между дисбиозом кишечника и БА. Микробиота кишечника — это совокупность микроорганизмов, живущих в желудочно-кишечном тракте [33]. На моделях животных установлено, что существуют пути двусторонней коммуникации между кишечником и головным мозгом, некоторые из них управляются иммунной системой, другие — блуждающим нервом или модуляцией нейротрансмиттеров микробиотой. Бактерии продуцируют широкий спектр нейротрансмиттеров, включая дофамин, норадреналин, серотонин или гамма-аминомасляную кислоту. Эти нейротрансмиттеры способны проникать через слизистую оболочку кишечника и попадать в кровотоки [34, 35]. Данные одного из исследований указывают на наличие потенциального механизма транслокации Аβ в ЦНС через волокна блуждающих нервов. Он может внести значительный вклад в возникновение БА и нейровоспаления [36]. Другой механизм, влияющий на усиление иммунного ответа, связан со способностью некоторых бактерий продуцировать функциональные внеклеточные амилоидные белки [37].

Дисбактериоз микробиоты в течение жизни может приводить к системной воспалительной реакции и влиять на иммунный ответ микроглии. Активированная микроглия и реактивные астроциты способствуют развитию нейровоспаления и дисфункции гематоэнцефалического барьера. Со временем проницаемость кишечника и гематоэнцефалического барьера увеличивается, что приводит к проникновению метаболитов, продуцируемых микробиотой кишечника, из крови в головной мозг, к воспалению и запуску порочного круга разрушения нейронов. К бактериальным метаболитам, способным прямо или косвенно влиять на функцию мозга, относятся короткоцепочечные жирные кислоты, в том числе ацетат, бутират и пропионат [33]. Обнаружено, что микробиота пожилых людей с БА имеет более низкое разнообразие микрофлоры, что может привести к усилению воспаления в головном мозге и прогрессированию когнитивной дисфункции [34]. Схематично взаимодействие микробиоты кишечника и мозга при БА представлено на рис. 2.

Современные технологии изучения БА

Моделирование БА на экспериментальных животных

Одной из основных технологий для исследования патогенетических механизмов БА является использование трансгенных мышей с целью создания моделей БА. Модели БА можно разделить на группы в зависимости от того, какие конкретно факторы молекулярного патогенеза болезни реализованы при их создании, а также в зависимости от генетических изменений в ключевых генах БА (гиперэкспрессия мутаций, модификации в генах без гиперэкспрессии) и от возраста манифестации моделируемой патологии (формы с ранним или поздним началом) [38, 39].

Раннее начало болезни характерно для семейных форм БА. Многие модели основаны на воссоздании семейной формы БА при помощи гиперэкспрессии мутаций в каузальных альцгеймеровских генах *APP*, *PSEN1* и *PSEN2*. Такие трансгенные модели обычно приводят к значительному церебральному накоплению Аβ в раннем возрасте, развитию таупатии и быстрому прогрессированию нейродегенеративной патологии. В данных моделях наблюдаются признаки сходства с агрегатами тау человека, имеют место более высокие уровни фосфорилирования тау и нестабильные нейрофибрилярные клубки [38]. К моделям БА с ранним началом относятся трансгенные мыши линий Tg2576, APP23, PDAPP, TgCRND8, APPPS1, 5XFAD и 3xTG-BA [33].

Моделирование БА с поздним началом неразрывно связано с воспроизведением факторов риска развития спорадической формы заболевания [38]. Самым известным фактором риска спорадической БА (помимо возраста и женского пола) является генетический аллель *ApoE-ε4*. Для исследовательских целей были созданы модели мышей с различными модификациями в гене *ApoE* (мышь как с инактивацией *ApoE*, так и со встраиванием в геном новых нуклеотидных вариаций данного гена) [39]. Существуют также модели БА на мышах с использованием генов, имеющих меньшее (по сравнению с *ApoE*) влияние на развитие БА, например, модели с нокаутом гена *TREM2* [38, 39]. Отдельно можно выделить модель с модификациями в гене белка-предшественника амилоида *APP* без его гиперэкспрессии (так называемая «нок-инная» модель). Мыши с нок-инной модификацией *APP* продуцируют высокий уровень патологической формы амилоида — Аβ(1-42), а также демонстрируют синаптическую патологию и нарушение памяти, аналогичные таковым у пациентов с БА. Однако эта модель не имеет проявлений таупатии и формирования нейрофибрилярных клубков, у таких животных отсутствуют нейродегенерация и массивная потеря нейронов [39].

При использовании моделей БА всегда возникает вопрос адекватности выбранных параметров развивающейся патологии для трансляции результатов экспериментальных исследований в клинику [38]. Например, в большинстве моделей в определённой степени отражены основные нейropатологические признаки БА (накопление Аβ и др.), а также характерные для БА поведенческие нарушения, но при этом экспериментальные модели БА на животных демонстрируют либо незначительную потерю клеток головного мозга, либо парадоксальное увеличение клеточности [40].

Оценка электрофизиологических характеристик ткани головного мозга

На клеточном уровне БА проявляется выраженными изменениями электрической активности нейронов. Фиксируют ингибирование долговременной потенциации и усиление долговременной депрессии в гиппокампе, а также изменение активности NMDA- и ГАМК-рецепторов [41].

В связи с тем, что БА является синаптической патологией, необходимо отметить важность применения электрофизиологических методов для изучения механизмов патогенеза данного заболевания. Электрофизиология позволяет исследовать состояние головного мозга при БА на разных уровнях. Накопление агрегатов бляшек Аβ и таупатия влияют на синхронизацию/десинхронизацию нейронной активности (т.е. постсинаптических потенциалов и потенциалов действия). Для измерения ионных токов через одиночные каналы в микромасштабе используется методика локальной фиксации потенциала (пэтч-кламп), являющаяся золотым стандартом в клеточной электрофизиологии [42, 43]. Метод локальной фиксации потенциала позволяет регистрировать крайне малые токи от единичных ионных каналов и суммарные ионные токи при фиксированном потенциале мембраны целой клетки. Данную технологию применяют в таких режимах, как «целая клетка», «наружная сторона снаружи» и «внутренняя сторона снаружи».

Первичные культуры нейронов для исследований можно получить от трансгенных мышей или культивировать *in vitro*. Регистрацию электрофизиологических сигналов также можно проводить на срезах головного мозга, полученных от животных моделей БА. Аберрантную нейронную синхронизацию головного мозга можно фиксировать в макромасштабе *in vivo* при помощи скальповых электродов и внутричерепной ЭЭГ. Внутричерепные и эпидуральные записи собирают данные об активности потенциалов локального поля и активности ЭЭГ в животных моделях БА, в то время как экстракраниальные записи активности ЭЭГ или данные магнитоэнцефалографии регистрируются у пациентов с БА на разных стадиях заболевания [43].

Оптогенетика и хемогенетика

Для понимания механизмов передачи сигналов по нейронным цепям и потери памяти при БА применяется оптогенетика. Суть оптогенетического метода заключается в доставке в нейроны или клетки глии генов, кодирующих белки опсины, которые являются светочувствительными ионными каналами и насосами, или белковые комплексы, созданные с использованием растительных или бактериальных фоторецепторов. Доставленные опсины (например, каналородопсин, халородопсин) и «фотопереключаемые» белки (например, фитохромы, криптохромы) реагируют на разные длины волн электромагнитного излучения. Опсины тем самым инициируют открытие или закрытие ионных насосов и каналов, оказывая возбуждающее или тормозящее влияние на нейроны, а «фотопереключаемые» белки обеспечивают пространственный и временной контроль белковой активности [44, 45]. Центральная идея оптогенетики заключается в тонкой настройке оптогенетических белков, чтобы они соответствовали определённым субпопуляциям клеток, а затем вызывали желаемые изменения мембранного потенциала с помощью света [40, 45].

Оптогенетический метод был применён для запуска олигомеризации Аβ под воздействием света [45, 46]. Разработаны флуоресцентно меченные оптогенетически активированные варианты Аβ, способные олигомеризоваться *in vitro* при освещении. В исследовании пространственный и временной контроль белковой активности достигаются при использовании «фотопереключаемых» белков, а именно модифицированной версии белка криптохрома 2 *Arabidopsis thaliana*, который быстро и обратимо олигомеризуется в фототела в присутствии синего света с длиной волны 488 нм. Необходимо разделять метаболические и физические повреждения, вызываемые Аβ, а также повреждения, вызываемые индуцированной светом олигомеризацией Аβ и простой экспрессией Аβ. Индуцированная светом олигомеризация воспроизводит большое количество характерных признаков БА, что делает оптогенетику ценным методом для получения новой информации о механизме действия Аβ и молекулярном патогенезе БА в целом. Данный метод был усовершенствован для создания агрегации Аβ не только *in vitro*, но и *in vivo* [45, 46].

Для ранних стадий БА характерны нарушения эпизодической памяти, в которой решающую роль играет гиппокамп. С помощью оптогенетического исследования можно выявить кортико-гиппокампальные взаимодействия, нарушения медленноволновой активности, дисфункцию работы базального переднего мозга и холинергической системы [45]. Оптогенетические методы можно применять для исследования электрофизиологических особенностей нейронов на животных моделях нейродегенеративных заболеваний, в том числе БА. Например, возможно культивирование клеток гиппокампа и создание смешанной кортикостриатной культуры с последующим использованием оптогенетики. Оптогенетический метод позволил выявить изменения электрофизиологической активности нейронов на ранних этапах созревания культуры, что позволяет сделать вывод о практической важности оптогенетики как диагностического метода для выявления ранних отклонений от нормы [47].

Ещё одним методом, позволяющим (аналогично оптогенетике) избирательно и неинвазивно регулировать функциональное состояние нейронов, является хемогенетика. В рамках данной технологии вместо светочувствительных белков используются химически сконструированные молекулы и лиганды. Например, можно добиться активации модифицированных рецепторов, сопряжённых с G-белком, в результате доставки вирусами соответствующих генов в нейроны. Хемогенетика позволяет изучать функции группы нейронов в определённой структуре мозга посредством инъектирования векторного носителя, несущего нужные гены, в «область интереса». Существуют активационный и тормозный типы рецепторов, активируемых исключительно синтетическим лигандом. С их помощью можно контролировать нейронную активность одной и той же популяции клеток в двух разных направлениях, что помогает выявлять их вовлечённость в конкретные физиологические процессы [44]. Поскольку рецепторы модифицируются посредством случайного или сайт-направленного мутагенеза, они могут реагировать только на специфические синтетические лиганды. Влияние эндогенных медиаторов на эти рецепторы невозможно, поэтому при их экспрессии в мозге и введении соответствующего экзогенного синтетического лиганда будет регистрироваться активность только тех клеток, в которых экспрессируются модифицированные

рецепторы. Рецепторы, сопряжённые с G-белком, называются «дизайнерскими» и активируются исключительно «дизайнерскими» лекарствами. Наиболее часто используются «дизайнерскими» лекарствами являются hM3Dq и hM4Di [48].

Оптогенетика и хомогенетика имеют огромные преимущества в функциональных исследованиях нейронных цепей. В сочетании с электрофизиологическими методами можно идентифицировать и оценивать функциональные изменения в связях между отдельными нейронами в моделях БА. При помощи поведенческих тестов также возможно обнаружить нейронные цепи, ответственные за БА-подобную когнитивную дисфункцию в различных животных моделях БА [48].

Омиксные технологии

В изучении патогенеза БА важную роль играют омиксные технологии, в первую очередь протеомика. Протеомный анализ подразумевает структуризацию полученных данных о протеоме и их организацию в модули коэкспрессируемых белков, отражающих различные фенотипы на молекулярном, клеточном уровнях и уровне нейронных цепей. В рамках протеомного анализа мозга при БА проводится ферментативное расщепление белков с последующим разделением с помощью жидкостной хроматографии и измерением пептидов методом tandemной масс-спектрометрии. Информативные сетевые анализы протеома при БА выявили высоковоспроизводимые протеомные модули, некоторые из которых демонстрируют высокую диагностическую чувствительность/специфичность и имеют выраженную корреляцию с накоплением A β и другими признаками БА. Так, с помощью протеомных подходов удалось идентифицировать большой пул микроглиальных и астроцитарных белков, уровень которых прогрессивно увеличивается по мере течения БА [49].

Кроме протеомного анализа, из омиксных методов в изучении механизмов развития БА активно используются геномные подходы. Именно благодаря анализу генома были выявлены как мутации в охарактеризованных выше генах наследственно-семейных форм БА (*APP*, *PSEN1*, *PSEN2*), так и множество других генетических факторов риска развития БА. Известно, что моногенные формы БА составляют лишь часть всех случаев болезни (< 5%), в то время как большинство пациентов имеют полигенную спорадическую форму заболевания. Для идентификации генов, ответственных за развитие спорадических случаев БА, используется полигеномный скрининг, например, полигеномный поиск ассоциаций: при данном исследовании проводится идентификация однонуклеотидных полиморфизмов, связанных с БА, путём статистического анализа частоты вариантов в геноме у пациентов из группы БА по сравнению с контрольной группой [50]. По итогам такого анализа выявление определённых полиморфных аллелей или генотипов позволяет оценивать риск развития БА у конкретного индивидуума [51].

В настоящее время исследуется также транскриптом пациентов с различными стадиями и типами течения БА. Например, транскриптомика одиночных клеток позволяет проводить секвенирование одноклеточной РНК в процессе профилирования десятков тысяч клеток. Полученные данные дают уникальное представление об изменениях

транскрипции, связанных с БА, на клеточном уровне, а также выявляют клеточно-специфические и более общие (системные) нарушения экспрессии большого числа генов [52]. С учётом позднего начала и низкой частоты моногенных форм БА, именно транскрипционные сдвиги, вызванные эпигенетическими изменениями (без нарушения последовательности ДНК), могут иметь большее влияние на инициацию патологического каскада заболевания [51].

Оценка патологических белков и гибели клеток

Одним из классических методов исследования БА является иммуногистохимия, протоколы и методические возможности которой постоянно совершенствуются. Так, в рамках одного из исследований БА был разработан новый протокол циклической мультиплексной флуоресцентной иммуногистохимии срезов височной доли с последующим количественным анализом изображений. По результатам применения методики была оценена гипотеза о различных астроцитарных и микроглиальных фенотипах коры головного мозга людей без когнитивных нарушений и пациентов с БА, а также показано, что фенотипы, ассоциированные с БА, являются гетерогенными [53].

Визуализация ткани головного мозга

Для изучения прогрессирования БА применяются общеизвестные методы нейровизуализации — магнитно-резонансная томография (МРТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ). С целью визуализации накопления A β в головном мозге пациентов с БА много лет с успехом применяется в клинике методика ПЭТ с использованием специального радиофармпрепарата — ¹¹C-меченного Питтсбургского соединения В (PiB) [54]. Выявление в головном мозге накоплений A β с помощью PiB и других аналогичных соединений стало «золотым стандартом» прижизненной верификации альцгеймеровской патологии и вошло в современные рекомендации по диагностике БА [54, 55]. С недавнего времени ПЭТ-визуализация применяется для выявления накопления тау-белка или активации микроглии [39]. МРТ как более доступный метод применяется сегодня для оценки тонких атрофических изменений гиппокампа и различных участков коры головного мозга (в том числе в режиме МРТ-морфометрии), реконструкции нейросетей (функциональная МРТ покоя), оценки целостности проводящих путей (МРТ-трактография) и прижизненной биохимии мозга (МРТ-спектроскопия) [54]. Всё это позволяет производить детальную нейровизуализацию для определения характерных для БА изменений [56].

Заключение

Механизмы нейродегенеративного процесса при БА включают множество компонентов. Развитие заболевания может быть связано как с определёнными генетическими мутациями, так и с воздействием разнообразных эндо- и экзогенных факторов риска. К ключевым факторам патогенеза БА относятся накопление A β в веществе мозга, фосфорилирование тау-белка с формированием нейрофибрилярных клубков, дисфункция синапсов, митохондриальные нарушения, сбой механизмов аутофагии, нейровоспаление, дисбиоз кишечника и др. Впечатляющий прогресс в изучении клеточно-молекулярных механизмов БА за последние десятилетия стал возможен благодаря развитию и внедрению новых биомедицинских исследо-

вательских технологий, основными из которых являются создание трансгенных моделей заболевания, электрофизиологические методы, опто- и хемотропика, омиксные технологии, нейровизуализационные подходы и др. Ожидается, что именно омиксные технологии смогут расши-

рить наше понимание патогенеза БА, а также внедриться в клиническую практику и удовлетворить многие имеющиеся потребности, такие как диагностика и мониторинг БА. Однако не стоит забывать и про потенциал других методов изучения БА.

Список источников / References

- Naseri N., Wang H., Guo J. et al. The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* 2019;705:183–194. doi: 10.1016/j.neulet.2019.04.022
- Patterson C. World Alzheimer report 2018. The State of the art of dementia research: new frontiers. London; 2018; 48 p.
- Ghavami S., Shojaei S., Yeganeh B. et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog. Neurobiol.* 2014;112:24–49. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.10.004
- Eshraghi M., Adlimoghaddam A., Mahmoodzadeh A. et al. Alzheimer's disease pathogenesis: role of autophagy and mitophagy focusing in microglia. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(7):3330. doi: 10.3390/ijms22073330
- Laurent C., Buée L., Blum D. Tau and neuroinflammation: what impact for Alzheimer's disease and tauopathies? *Biomed. J.* 2018;41(1):21–33. doi: 10.1016/j.bj.2018.01.003
- Vidal C., Zhang L. An analysis of the neurological and molecular alterations underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease и Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Cells.* 2021;10(3):546. doi: 10.3390/cells10030546
- Tiwari S., Atluri V., Kaushik A. et al. Alzheimer's disease: pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int. J. Nanomedicine.* 2019;14:5541–5554. doi: 10.2147/IJN.S200490
- Xia X., Jiang Q., McDermott J., Jing-Dong J. Aging and Alzheimer's disease: comparison and associations from molecular to system level. *Aging Cell.* 2018;17(5):e12802. doi: 10.1111/acel.12802
- Faux N.G., Rembach A., Wiley J. et al. An anemia of Alzheimer's disease. *Mol. Psychiatry.* 2014;19(11):1227–1234. doi: 10.1038/mp.2013.178
- Татарникова О.Г., Орлов М.А., Бобкова Н.В. Бета-амилоид и тау-белок: структура, взаимодействие и приноподобные свойства. *Успехи биологической химии.* 2015;55:351–390.
- Tatarnikova O.G., Orlov M.A., Bobkova N.V. Beta-amyloid and tau-protein: structure, interaction, and prion-like properties. *Biochemistry (Mosc.).* 2015;80(13):1800–1819. (In Russ.). doi: 10.1134/S000629791513012X
- Мухамедьяров М.А., Зефирова А.Л. Влияние β-амилоидного пептида на функции возбудимых тканей: физиологические и патологические аспекты. *Успехи физиологических наук.* 2013;44(1):55–71.
- Muhamedjarov M.A., Zefirov A.L. Influence of β-amyloid peptide on functions of excitable tissues: physiological and pathological aspects. *Advances in physiological sciences.* 2013;44(1):55–71. (In Russ.)
- Huang Y., Liu R. The toxicity and polymorphism of β-amyloid oligomers. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(12):4477. doi: 10.3390/ijms21124477
- d'Errico P., Meyer-Luehmann M. Mechanisms of pathogenic tau and Aβ protein spreading in Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* 2020;12:265. doi: 10.3389/fnagi.2020.00265
- Eshraghi M., Adlimoghaddam A., Mahmoodzadeh A. et al. Alzheimer's disease pathogenesis: role of autophagy and mitophagy focusing in microglia. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(7):3330. doi: 10.3390/ijms22073330
- Arnsten A., Datta D., Tredici K., Braak H. Hypothesis: tau pathology is an initiating factor in sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2021;17:115–124. doi: 10.1002/alz.12192
- Chen J.X., Yan S.D. Amyloid-β-induced mitochondrial dysfunction. *J. Alzheimers Dis.* 2007;12(2):177–184.
- Chen G., Xu T., Yan Y. et al. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol. Sin.* 2017;38(9):1205–1235. doi: 10.1038/aps.2017.28
- Perez Ortiz J.M., Swerdlow R.H. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease: Role in pathogenesis and novel therapeutic opportunities. *Br. J. Pharmacol.* 2019;176(18):3489–3507. doi: 10.1111/bph.14585
- Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Митохондриальная пора как мишень фармакологического воздействия. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии.* 2014;13(4):24–33.
- Levchenkova O.S., Novikov V.E., Pozhilova E.V. Mitochondrial pore as a target for pharmacological exposure. *Vestnik of Smolensk State Medical Academy.* 2014;13(4):24–33. (In Russ.)
- Glick D., Barth S., Macleod K.F. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J. Pathol.* 2010;221(1):3–12. doi: 10.1002/path.2697
- Ghavami S., Shojaei S., Yeganeh B. et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog. Neurobiol.* 2014;112:24–49. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.10.004
- Hansen D.V., Hanson J.E., Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease. *J. Cell Biol.* 2018;217(2):459–472. doi: 10.1083/jcb.201709069
- Guo S., Wang H., Yin Y. Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases. *Front. Aging Neurosci.* 2022;14:815347. doi: 10.3389/fnagi.2022.815347
- Chew G., Petretto E. Transcriptional networks of microglia in Alzheimer's disease and insights into pathogenesis. *Genes (Basel).* 2019;10(10):798. doi: 10.3390/genes10100798
- Harry G.J. Microglia during development and aging. *Pharmacol. Ther.* 2013;139(3):313–326. doi: 10.1016/j.pharmthera.2013.04.013
- Borst K., Dumas A.A., Prinz M. Microglia: immune and non-immune functions. *Immunity.* 2021;54(10):2194–2208. doi: 10.1016/j.immuni.2021.09.014
- Soteros B.M., Sia G.M. Complement and microglia dependent synapse elimination in brain development. *WIREs Mech. Dis.* 2022;14(3):e1545. doi: 10.1002/wsbm.1545
- Горбачева Л.Р., Помыткин И.А., Сурин А.М. и др. Астроциты и их роль в патологии центральной нервной системы. *Российский педиатрический журнал.* 2018;21(1):46–53.
- Gorbacheva L.R., Pomytkin I.A., Surin A.M. et al. Astrocytes and their role in the pathology of the central nervous system. *The Russian Pediatric Journal.* 2018;21(1):46–53. (In Russ.)
- Liddelow S.A., Guttenplan K.A., Clarke L.E. et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541(7638):481–487. doi: 10.1038/nature21029
- Casella R., Cecchi C. Calcium dyshomeostasis in Alzheimer's disease pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(9):4914. doi: 10.3390/ijms22094914
- Wang X., Zheng W. Ca²⁺ homeostasis dysregulation in Alzheimer's disease: a focus on plasma membrane and cell organelles. *FASEB J.* 2019;33(6):6697–6712. doi: 10.1096/fj.201801751R
- Wang W., Zhao F., Ma X. et al. Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. *Mol. Neurodegener.* 2020;15(1):30. doi: 10.1186/s13024-020-00376-6
- Sochocka M., Donskow-Lysoniewska K., Diniz B.S. The gut microbiome alterations and inflammation-driven pathogenesis of Alzheimer's disease — a critical review. *Mol. Neurobiol.* 2019;56(3):1841–1851. doi: 10.1007/s12035-018-1188-4
- Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res.* 2018;1693(Pt B):128–133. doi: 10.1016/j.brainres.2018.03.015
- Megur A., Baltrukienė D., Bukelskienė V. The microbiota–gut–brain axis and Alzheimer's disease: neuroinflammation is to blame? *Nutrients.* 2020;13(1):37. doi: 10.3390/nu13010037
- Sun Y., Somerville N.R., Liu J. Intra – gastrointestinal amyloid – β1–42 oligomers perturb enteric function and induce Alzheimer's disease pathology. *J. Physiol.* 2020;598(19):4209–4223. doi: 10.1113/JP279919
- Friedland R.P., Chapman M.R. The role of microbial amyloid in neurodegeneration. *PLoS Pathog.* 2017;13(12):e1006654. doi: 10.1371/journal.ppat.1006654
- Tai L.M., Weng J.M., LaDu M.J., Brady S.T. Relevance of transgenic mouse models for Alzheimer's disease. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2021;177:1–48. doi: 10.1016/bs.pmbts.2020.07.007
- Nakai T., Yamada K., Mizoguchi H. Alzheimer's disease animal models: elucidation of biomarkers and therapeutic approaches for cognitive impairment. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):5549. doi: 10.3390/ijms22115549
- Wirhlich O., Zampar S. Neuron loss in Alzheimer's Disease: translation in transgenic mouse models. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(21):8144. doi: 10.3390/ijms21218144
- Tönnies E., Trushina E. Oxidative Stress, synaptic dysfunction, and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2017;57(4):1105–1121. doi: 10.3233/JAD-161088
- Babiloni C., Blińska K., Bonanni L. et al. What electrophysiology tells us about Alzheimer's disease: a window into the synchronization and connectivity of brain neurons. *Neurobiol. Aging.* 2020;85:58–73. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.09.008
- Шуваев А.Н., Салмин В.В., Кувачева Н.В. и др. Современные тенденции в развитии метода локальной фиксации потенциала: новые возможности для нейрофармакологии и нейробиологии. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2015;9(4):54–58.
- Shuvaev A.N., Salmin V.V., Kuvacheva N.V. et al. Modern tendencies in the development of the patch-clamp technique: new opportunities for neuropharmacology and neurobiology. *Annals of clinical and experimental neurology.* 2015;9(4):54–58. (In Russ.)

44. Новиков Н.И., Бражник Е.С., Кичигина В.Ф. Применение опто- и хемогенетических методов для изучения двигательных нарушений при болезни Паркинсона. *Современные технологии в медицине*. 2019;11(2):150–163.
- Novikov N.I., Brazhnik E.S., Kichigina V.F. The use of optogenetic and dreads techniques: applications to the behavioral pathology in Parkinson's disease. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2019;11(2):150–163. (In Russ.). doi: 10.17691/stm2019.11.2.21
45. Mirzayi P., Shobeiri P., Kalantari A. et al. Optogenetics: implications for Alzheimer's disease research and therapy. *Mol. Brain*. 2022;15(1):20. doi: 10.1186/s13041-022-00905-y
46. Lim C.H., Kaur P., Teo E. et al. Application of optogenetic Amyloid- β distinguishes between metabolic and physical damages in neurodegeneration. *Elife*. 2020;9:e52589. doi: 10.7554/eLife.52589
47. Власова О.Л., Артамонов Д.Н., Ерофеев А.И., Безпрозванный И.Б. Применение оптогенетических подходов к исследованию электрофизиологических особенностей нейронов у мышей-моделей нейродегенеративных заболеваний. *Первая Всероссийская конференция и Школа с международным участием «Оптогенетика и оптофармакология»: сборник научных трудов*. СПб.; 2018:23–25.
- Vlasova O.L., Artamonov D.N., Erofeev A.I. Application of optogenetic approaches to the study of electrophysiological features of neurons in mouse models of neurodegenerative diseases. In: *First All-Russian Conference and School with International Participation "Optogenetics and Optopharmacology": collection of scientific papers*. St. Petersburg; 2018:23–25. (In Russ.)

Информация об авторах

Мухамедьяров Марат Александрович — д.м.н., профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0397-9002>

Ахмадиева Ляисан Айдаровна — студент лечебного факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0009-0000-4926-3192>

Нагиев Керим Казбекович — аспирант кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0009-0000-1577-9780>

Зефирова Андрей Львович — д.м.н., академик РАН, профессор каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7436-7815>

Вклад авторов. *Мухамедьяров М.А.* — формулирование целей и задач, руководство и координация работы, анализ данных, написание и редактирование рукописи; *Ахмадиева Л.А.* — поиск и анализ данных, написание и редактирование рукописи; *Нагиев К.К.* — поиск и анализ данных; *Зефирова А.Л.* — анализ данных, редактирование рукописи. Все авторы одобрили финальную версию перед публикацией.

48. Ying Y., Wang J. Illuminating neural circuits in Alzheimer's disease. *Neurosci. Bull.* 2021;37(8):1203–1217. doi: 10.1007/s12264-021-00716-6
49. Rayaprolu S., Higginbotham L., Bagchi P. et al. Systems-based proteomics to resolve the biology of Alzheimer's disease beyond amyloid and tau. *Neuropsychopharmacology*. 2021;46(1):98–115. doi: 10.1038/s41386-020-00840-3
50. Jung T.J., Kim Y.H., Bhalla M. et al. Genomics: new light on Alzheimer's disease research. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(12):3771. doi: 10.3390/ijms19123771
51. Bertram L., Tanzi R.E. Genomic mechanisms in Alzheimer's disease. *Brain Pathol.* 2020;30(5):966–977. doi: 10.1111/bpa.12882
52. Mathys H., Davila-Velderrain J., Peng Z. et al. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2019;570(7761):332–337. doi: 10.1038/s41586-019-1195-2
53. Muñoz-Castro C., Noori A., Magdamo C.J. et al. Cyclic multiplex fluorescent immunohistochemistry and machine learning reveal distinct states of astrocytes and microglia in normal aging and Alzheimer's disease. *J. Neuroinflammation*. 2022;19(1):30. doi: 10.1186/s12974-022-02383-4
54. Vinters H.V. Emerging concepts in Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2015;10:291–319. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-163927
55. Reitz C., Mayeux R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem. Pharmacol.* 2014;88(4):640–651. doi: 10.1016/j.bcp.2013.12.024
56. Qiu S., Joshi P.S., Miller M.I. et al. Development and validation of an interpretable deep learning framework for Alzheimer's disease classification. *Brain*. 2020;143(6):1920–1933. doi: 10.1093/brain/awaa137

Information about the authors

Marat A. Mukhamedyarov — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of normal physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0397-9002>

Liaisan A. Akhmadieva — student, General medicine faculty, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-4926-3192>

Kerim K. Nagiev — postgraduate student, Department of the normal physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-1577-9780>

Andrey L. Zefirov — D. Sci. (Med.), Academician of RAS, Professor, Department of normal physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7436-7815>

Author contribution. *Mukhamedyarov M.A.* — formulation of goals and objectives, management and coordination of work, data analysis, writing and editing the manuscript; *Akhmadieva L.A.* — search and analysis of data, writing and editing the manuscript; *Nagiev K.K.* — search and analysis of data; *Zefirov A.L.* — data analysis, manuscript editing. All authors made a final approval of the version to be published.