

Биомаркеры нейровоспаления и микроциркуляторной дисфункции при болезни Альцгеймера: комплексная оценка патогенетической и диагностической роли

А. К. Миночкин^{1,2}, В. Ю. Лобзин^{2,3}, Н. Н. Сушенцева¹, О. С. Попов^{1,2}, С. В. Апалько¹, Ю. П. Коптева^{1,2}, С. Д. Пономарева^{1,2}, С. Г. Щербак^{1,2}

¹ СПб ГБУЗ «Городская больница № 40 Курортного административного района» Минздрава России, Сестрорецк, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – определение лабораторных биомаркеров БА, которые могли бы быть перспективны для исследования в качестве диагностических инструментов.

Материалы и методы. Были обследованы 111 пациентов (52 пациента с БА и 59 пациентов контрольной группы без когнитивных нарушений), у которых изучались концентрация 103 потенциальных биомаркеров в плазме крови (111 человек) и ЦСЖ (24 человека).

Результаты. Получены статистически значимые различия ($p \leq 0,01$) в плазменной концентрации 43 биомаркеров у пациентов с БА и контрольной группы, в корреляционной матрице, отражающей взаимодействия между биомаркерами в ЦСЖ (17 маркеров) и в плазме крови (13 маркеров).

Заключение. Полученные нами результаты свидетельствуют о значительной роли нейровоспаления, сосудистой патологии, ангиогенеза, дисфункции ГЭВ в патологическом процессе, происходящем при БА, которые ранее были подтверждены различными исследователями. Были выявлены патогенетически обоснованные плазменные биомаркеры, ассоциированные с различными звеньями патогенеза БА. Биомаркеры липидного обмена, такие как Apo-A1, Apo-CII, в периферическом кровотоке могут рассматриваться как индикаторы сосудисто-нейродегенеративного процесса. Провоспалительные цитокины (IFN α , IFN γ , IL-15, IL-1 α , IL-8, sTNFR-1, sTNFR-2, IL-12p70, включая его субъединицу IL-12p40, IL-17 α , sCD40L, sgp130, IP10, эндоглин) и противовоспалительные биомаркеры (G-CSF1, BMP9, комплемент C4, Д-димер, EFG1, эотаксин, фракталкин, G-CSF, GM-CSF, GDF-15, IL-1RA, IL-4, MDC, MIP1 β , MIP4, P-селектин, PEDF, sCD30, sICAM-1, sNCAM-1, sIL2ra, sIL-4r, TGFA VEGF-C, альфа-1-антитрипсин) в плазме крови являются перспективными кандидатами в будущие эффективные диагностические лабораторные биомаркеры. Наиболее перспективным биомаркером представляется субъединица 40 интерлейкина 12 (IL-12p40) в связи с ее повышением в плазме пациентов с БА в отличие от контрольной группы и наибольшим количеством корреляций ее плазменного уровня с другими биомаркерами в ЦСЖ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Альцгеймера, биомаркеры, деменция, субъединица 40 интерлейкина 12.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Biomarkers of neuroinflammation and microcirculatory dysfunction in Alzheimer's disease: a comprehensive assessment of the pathogenetic and diagnostic role

А. К. Миночкин^{1,2}, В. Ю. Лобзин^{2,3}, Н. Н. Сушенцева¹, О. С. Попов^{1,2}, С. В. Апалько¹, Ю. П. Коптева^{1,2}, С. Д. Пономарева^{1,2}, С. Г. Щербак^{1,2}

¹ Kurortny Administrative District City Hospital № 40, Ministry of Health of Russia, Sestroretsk, St. Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ S. M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russia

SUMMARY

The aim of the study was to identify laboratory biomarkers of asthma that could be promising for research as diagnostic tools.

Materials and methods. 52 patients with asthma and 59 patients in the control group without cognitive impairment were examined, in which the concentration of 103 potential biomarkers in blood plasma (111 people) and CSF (24 people) were studied.

Results. Statistically significant differences ($p < 0.01$) in plasma concentrations of 43 biomarkers were obtained in patients with asthma and the control group. In a correlation matrix reflecting the interactions between biomarkers in CSF (17 markers) and in blood plasma (13 markers).

Conclusion. Our results indicate a significant role of neuroinflammation, vascular pathology, angiogenesis, and BBB dysfunction in the pathological process occurring in asthma, which were previously confirmed by various researchers. Pathogenetically based plasma biomarkers associated with various links in the pathogenesis of asthma have been identified. Biomarkers of lipid metabolism, such as Apo-A1, Apo-CII in the peripheral bloodstream can be considered as indicators of the vascular-neurodegenerative process. Pro-inflammatory cytokines (IFN α , IFN γ , IL-15, IL-1 α , IL-8, sTNFR-1, sTNFR-2, IL-12p70 (including its IL-12p40 subunit), IL-17 α , sCD40L, sgp130, IP10, endoglin) and anti-inflammatory biomarkers (G-CSF1, BMP9, complement C4, D-dimer, EFG1, eotaxin, fractalkine, G-CSF, GM-CSF, GDF-15, IL-1RA, IL-4, MDC, MIP1 β , MIP4, P-selectin, PEDF, sCD30, sICAM-1, sNCAM-1, sIL-2ra, sIL-4r, TGFA VEGF-C, alpha-1-antitrypsin) in blood plasma, they are promising candidates for future effective diagnostic laboratory biomarkers. The most promising biomarker seems to be interleukin 12 subunit 40 (IL-12p40), due to its increase in the plasma of patients with asthma in contrast to the control group and the greatest number of correlations of its plasma level with other biomarkers in CSF.

KEYWORDS: Alzheimer's disease, biomarkers, dementia, interleukin 12 subunit 40.

CONFLICT OF INTERESTS. The authors declare that there are no possible conflicts of interest.

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) – нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся прогрессирующей гибелью нейронов, глии и развитием специфических атрофических изменений. Патогенез в значительной степени остается малоизученным, несмотря на существование как минимум 15 гипотез развития болезни [1]. Для понимания механизмов нейродегенерации необходимо учитывать не только генетические факторы, но и ее различные этапы, а также возможные триггеры этого процесса. Наблюдаемый многолетний нарратив фармацевтических компаний, находящихся в поиске эффективной терапевтической молекулы и различных исследовательских центров, пытающихся развить или опровергнуть имеющиеся гипотезы заболевания, безусловно, вдохновляет принять участие в борьбе с заболеванием, которое уже объявлено чумой XXI века. Исследование относительно новых гипотез, таких как нейровоспалительная, а также изучение сосудистой дисфункции потенциально может дополнить постепенно складывающуюся патогенетическую картину БА.

Современные представления о нейровоспалении при БА, его связи с сосудистой дисфункцией, ангиогенезом и нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера

В последние годы при БА активно изучается роль реакций воспаления, связанных с микроглией и астроцитами в центральной нервной системе (ЦНС) [29, 30, 31]. При различных патологических процессах, в том числе происходящих при БА, функция гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) может оказаться скомпрометированной, что приводит к проникновению различных клеток из периферического кровотока в мозговую ткань, где они становятся частью системы паренхиматозной микроглии и макрофагов [2]. В ответ на повреждение центральной нервной системы, такие как деструкция нейронов или инфекционный процесс, микроглия активируется и вырабатывает провоспалительные факторы (фенотип M1) либо противовоспалительные факторы (фенотип M2) [3]. Воспалительный тип микроглии (M1) обычно активируется Toll-подобными рецепторами и сигнальными путями γ -интерферона. Микроглия, активированная по M1-типу, продуцирует провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин-6 (IL-6), IL-1, IL-1 β и хемокины, а также экспрессирует никотинамид-аденин-динуклеотидфосфат (НАДФН)-оксидазу и матриксные металлопротеиназы. При этом считается, что противовоспалительный тип M2 играет нейропротективную роль, усиливая экспрессию аргиназы-1, секретируя факторы роста и способствует высвобождению противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10 и трансформирующий фактор роста β (TGF- β) [32]. При БА активированная микроглия вырабатывает провоспалительные цитокины и увеличивает отложение бета-амилоида за счет повышения регуляции β -секретазы – фермента, индуцирующего скорость производства бета-амилоида [33]. Цитокины при активном нейродегенеративном процессе оказываются вовлеченными в иммунный ответ и в дальнейшем стимулируют другие

медиаторы в нейровоспалительных иммунных реакциях. Данный факт был зафиксирован у пациентов с БА и вследствие аберрантных процессов головного мозга, таких как нейротоксичность, накопление бета-амилоидных бляшек и патологии, связанной с тау-белком [20]. Важную роль в нейровоспалении играют и астроциты, которые являются наиболее распространенным типом клеток в ЦНС и важной частью так называемого трехчастного синапса. Они высокочувствительны к состоянию окружающей среды и быстро реагируют на различные изменения ЦНС. Помимо этого, они регулируют процесс созревания нейронов и поддерживают их функционирование [34]. Подобно микроглии астроциты способны находиться в различных состояниях активации и могут проявлять свои как нейропротективные (уменьшая воспаление и стимулируя восстановление), так и нейротоксичные (способствуя воспалению, которое может привести к нейродегенерации) свойства. Астроциты способны реагировать на воспалительные молекулы, такие как цитокины и хемокины, а также участвовать в обнаружении агрегированного бета-амилоида [35]. Цитокины и хемокины, продуцируемые микроглией и астроцитами, способствуют проникновению циркулирующих Т-клеток и макрофагов из периферического кровотока с целью удаления различных патогенов. Инфламмосомы, активирующие воспалительные реакции, являются частью врожденной иммунной системы. Различные типы инфламмосом присутствуют также в микроглии, астроцитах и нейронах, где их активация способствует развитию и прогрессированию нейродегенеративных заболеваний, при которых воспаление считается распространенным патофизиологическим механизмом [36]. Особый интерес представляет уже изученное взаимодействие между нейровоспалением и тау-патологией, в котором определялась связь между прионоподобными свойствами тау-белка и нейровоспалительной реакцией, сопутствующая его распространению и фосфорилированию [37]. Несмотря на то что причинно-следственная связь между нейровоспалением и тау-патологией в настоящее время достоверно не определена, так как активация микроглии и накопление тау-белка распространяются во времени и пространстве параллельно и последовательно охватывают различные области головного мозга, возможно, именно регуляторные каскады, запускаемые воспалением, а не накопление бета-амилоида, приводят к гиперфосфорилированию тау-белка и индукции других механизмов нейродегенерации [38]. В перспективе изучения нейровоспаления при БА особенно интересен тот факт, что доказано снижение заболеваемости БА у людей, регулярно использующих нестероидные противовоспалительные препараты (НПВС) [4–5]. Связь нейровоспаления с сосудистой патологией обусловлена нарушением функционирования нейроваскулярной единицы (НВЕ), которая является сложной функционально-анатомической структурой, состоящей из нейронов, глиальных клеток, таких как микроглия, астроциты и олигодендроциты, сосудистых клеток, таких как эндотелиальные клетки, перicytes, базальной пластинкой, образованной эндотелиальными клетками сосудов головного мозга и внеклеточным матриксом [6–7]. Компоненты НВЕ тесно связаны друг

с другом и обеспечивают эффективную систему работы мозгового кровоснабжения, поддержания метаболической активности нейронов, а также эффективное функционирование ГЭБ [8]. Некоторые исследования уже продемонстрировали то, что дисфункция и деструкция ГЭБ, а следовательно, и изменение церебрального кровотока, вызывают накопление токсичных белков в ЦНС, что впоследствии приводит к нейродегенерации и нейрональной гибели, опосредованной прямой нейрональной эксайто-токсичностью, окислительным стрессом и нарушением трофики нейронов [9]. Нарушение регуляции НВЕ и ГЭБ является критическим патофизиологическим явлением при нейродегенеративных заболеваниях, включая БА [39]. Исследователями высказывались предположения, что сосудистые отложения бета-амилоида могут дестабилизировать функцию НВЕ, приводя к дисфункции сигнальных путей между каждой из клеток, которые являются ее структурой [40]. В комплексной модели патогенеза БА процессы ангиогенеза представляются не менее важными, так как локальная индукция экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) астроцитами и концентрация ангиогенных клеток вблизи амилоидных бляшек убедительно свидетельствуют о том, что ангиогенез инициируется вокруг амилоидных отложений в мозге человека с БА. Снижение возможностей ангиогенеза у пожилых людей может быть связано с естественным процессом старения и снижением экспрессии ангиогенных факторов роста. В здоровом мозге снижение активности факторов роста с возрастом, таких как VEGF, фактор роста фибробластов (FGF-1 и FGF-2) и ангиопоэтина, приводит к медленному восстановлению повреждений тканей из-за снижения ангиогенных возможностей. Также некоторые исследователи предполагали, что выявленное ими снижение концентрации ангиогенных факторов роста способствует когнитивным нарушениям в связи с тем, что аккумуляция бета-амилоида значительно ограничивает выработку факторов роста эндотелия сосудов, таких как VEGF. Это приводит к снижению концентрации фактора роста, доступного для ангиогенеза, уменьшая количество кровеносных сосудов и вызывая гипоперфузию и в дальнейшем поддерживая патологический каскад при БА [42]. Таким образом, складывающаяся общая картина различных звеньев патогенеза БА, таких как нейровоспаление, сосудистая дисфункция, механизмы ангиогенеза, нарушение проницаемости ГЭБ, послужила основой для построения модели выполненного нами исследования.

Цель исследования

Целью проведенного нами исследования была в первую очередь попытка выявить лабораторные биомаркеры БА в периферическом кровотоке, которые могли бы расширить понимание патогенетических механизмов и являться потенциальными диагностическими инструментами. Согласно современным представлениям, патогенез БА является совокупностью сложных, многоуровневых и взаимосвязанных процессов, и мы предполагаем, что эти процессы, возможно, имеют индикацию в виде изменений концентрации цитокинов, хемокинов, растворимых рецепторов цитокинов, факторов роста, аполипопротеинов, молекул

клеточной адгезии и белков системы комплемента в плазме крови и цереброспинальной жидкости пациентов с БА в сравнении со здоровыми людьми. Задачей исследования стало определение различий в концентрациях исследуемых биомаркеров в плазме крови между пациентами с БА и контрольной группой без нейродегенеративных заболеваний, а также выявление возможных корреляционных связей между концентрациями биомаркеров в плазме крови и ЦСЖ пациентов с БА.

Материалы и методы

В исследование включен биологический материал (плазма крови), полученный от 111 пациентов. В контрольную группу (условно здоровые) вошли 59 пациентов, 28 женского пола ($53,5 \pm 16,5$ лет) и 31 мужского пола (49 ± 12 лет). В исследуемую группу вошли 52 пациента с болезнью Альцгеймера, диагностированной по критериям NIA [10–12], 39 женского пола (72 ± 8 лет) и 13 мужского пола ($68 \pm 10,5$ лет). 24 пациентам исследуемой группы была выполнена люмбальная пункция с забором ЦСЖ – 16 женщинам (68 ± 7 лет) и 8 мужчинам ($70,5 \pm 7$ лет). Верификация нозологического диагноза была проведена при помощи ПЭТ с F18-дезоксиглюкозой, которая была выполнена всем пациентам с использованием сканера BIOGRAPH mCT (Siemens, Германия) на базе СПб ГБУЗ «Городская больница № 40». Полученные при исследовании всей группы результаты включали в себя характерные признаки БА (снижение метаболизма F18-дезоксиглюкозы в височно-теменных областях) и интерпретировались нами как нейровизуализационный биомаркер нейродегенерации согласно критериям NIA. Пациенты исследуемой группы удовлетворяли клиническим критериям NIA для преддементной стадии БА либо для вероятной деменции при БА (общие клинические критерии деменции и наличие дополнительных признаков). На момент обследования у пациентов исследуемой и контрольной групп были исключены различные острые и обострения хронических заболеваний, которые характеризуются развитием воспалительного процесса. Объективизация отсутствия воспаления вследствие других причин заключалась в оценке и выполнении всем пациентам опытной и контрольной групп клинического и развернутого биохимического анализа крови, гормонального профиля, онкологических лабораторных маркеров, витаминов, общего анализа мочи и определении микроальбумина в моче, проведении компьютерной томографии грудной и брюшной полости, ультразвукового исследования органов малого таза, артерий и вен нижних конечностей, экстра- и интракраниальных сосудов, щитовидной железы, эхокардиографии. Всем пациентам была выполнена магнитно-резонансная томография головного мозга с целью установления патологического процесса, приводящего к развитию интеллектуально-мнестических нарушений. Исследования выполнялись в отделении лучевой диагностики СПб ГБУЗ «Городская больница № 40» на установках серии Magnetom фирмы Siemens (Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5 Т. Целью выполнения МР-визуализационных исследований было выявление потенциально обратимых заболеваний, приво-

Таблица 1
Список маркеров, вошедших в исследование

EGF	Эпидермальный фактор роста
HGF	Фактор роста гепатоцитов
HB-EGF	Гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста
PLGF	Плацентарный фактор роста
VEGFA	Фактор роста эндотелия сосудов А
VEGFC	Фактор роста эндотелия сосудов С
VEGFD	Фактор роста эндотелия сосудов D
FGF-1	Фактор роста фибробластов, кислая форма
FGF-2	Фактор роста фибробластов, основная форма
TGF-α	Трансформирующий фактор роста альфа
PDGF-AA	Тромбоцитарный фактор роста, лиганд А
PDGF-AB/BB	Тромбоцитарный фактор роста, гетеродимер
G-CSF	Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
GM-CSF	Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
GDF-15	Фактор дифференцировки роста-15
PEDF	Фактор дифференцировки из пигментного эпителия
BMP-9	Костный морфогенетический белок 9
Angiopoietin-2	Ангиопоэтин-2
Endoglin	Эндоглин
Endothelin-1	Эндоотелин-1
Follistatin	Фоллистатин
Leptin	Лептин
Apo-A1	Аполипопротеин AI
Apo-AII	Аполипопротеин AII
Apo-CII	Аполипопротеин CII
Apo-CIII	Аполипопротеин CIII
Apo-E	Аполипопротеин E
ADAMTS 13	Протеиназа фактора фон Виллебранда
D-DIMER	D-димер
MPO	Миелопероксидаза
P-SELECTIN	P-селектин
SAA	Сывороточный амилоидный белок А
SAP	Сывороточный амилоид Р
CRP	C-реактивный белок
α1-Antitrypsin	Альфа-1-антитрипсин
α2-Macroglobulin	Альфа-2-макроглобулин
IFN-α2	Интерферон альфа-2
IFN-γ	Интерферон гамма
MCP-1	Фактор хемотаксиса моноцитов-1
MCP-3	Фактор хемотаксиса моноцитов-3
MIP-1α	Макрофагальный белок воспаления-1 альфа
MIP-1β	Макрофагальный белок воспаления-1 бета
MIP-4	Макрофагальный белок воспаления-4
MDC	Макрофагальный хемокин
GRO	Белок, регулируемый ростом
Complement C 4	Белок C 4 системы комплемента
Complement C3	Белок C3 системы комплемента
Complement Factor H	Белок фактор H системы комплемента
ICAM-1	Молекула межклеточной адгезии (растворимая форма)
NCAM-1	Молекула адгезии нервных клеток (растворимая форма)
VCAM-1	Васкулярная молекула клеточной адгезии (растворимая форма)
TNF-α	Фактор некроза опухоли альфа
TNF-β	Лимфотоксин
IL-1α	Интерлейкин-1 альфа

Продолжение таблицы 1

IL-1β	Интерлейкин-1 бета
IL-1RA	Антагонист рецептора интерлейкина-1
IL-2	Интерлейкин-2
IL-3	Интерлейкин-3
IL-4	Интерлейкин-4
IL-5	Интерлейкин-5
IL-6	Интерлейкин-6
IL-7	Интерлейкин-7
IL-8	Интерлейкин-8
IL-9	Интерлейкин-9
IL-10	Интерлейкин-10
IL-12p40	40 кДа субъединица интерлейкина-12
IL-12p70	Интерлейкин-12
IL-13	Интерлейкин-13
IL-15	Интерлейкин-15
IL-17A	Интерлейкин-17
CX3CL1	Фрактакин
Eotaxin CCL11	Эотаксин-1
sCD 40L	Лиганд CD 40 (растворимая форма)
Flt3LG	Лиганд Flt3
IP-10	Интерферон-гамма индуцируемый белок
CD 30	CD 30 (растворимая форма)
EGFR	Рецептор эпидермального фактора роста (растворимая форма)
gp130	Гликопротеин 130 (растворимая форма)
IL-1RI	Рецептор интерлейкина-1 I типа (растворимая форма)
IL-1RII	Рецептор интерлейкина-1 II типа (растворимая форма)
IL-2Ra	Рецептор интерлейкина-2 (растворимая форма)
IL-4R	Рецептор интерлейкина-4 (растворимая форма)
IL-6R	Рецептор интерлейкина-6 (растворимая форма)
RAGE	Рецептор конечных продуктов гликозилирования (растворимая форма)
TNFR1	Рецептор факторов некроза опухоли I типа (растворимая форма)
TNFR2	Рецептор факторов некроза опухоли II типа (растворимая форма)
VEGFR 1	Рецептор VEGFA I типа (растворимая форма)
VEGFR 2	Рецептор VEGFA II типа (растворимая форма)
VEGFR 3	Рецептор VEGFC и VEGFD (растворимая форма)

дящих к развитию когнитивных нарушений, установление выраженности и локализации атрофических изменений либо выявление признаков сосудистого повреждения или другой патологии. Методом мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа на базе платформы FlexMap в биологическом материале пациентов (плазме крови и ЦСЖ) была проанализирована концентрация 103 различных маркеров. Критерием исключения являлось малое количество элементов в выборке (большое количество пропущенных значений). В итоге было выбрано 93 анализа, которые представлены в *таблице 1*.

Для замены пропущенных значений применялся алгоритм машинного обучения CART (Classification and Regression Trees) (Burgette & Reiter, 2010). Нормальность распределения была проверена критерием Шапиро – Уилка. Оценка различий между выборками была измерена при помощи критерия Манна – Уитни. Для построения

корреляционной матрицы был использован коэффициент корреляции Спирмена. Для статистической обработки и реализации методов машинного обучения использовался язык программирования R версия 3.6.1 и язык программирования Python версия 3.7.

Результаты

В ходе работы были изучены концентрации исследуемых маркеров в плазме крови и ЦСЖ в исследуемой и контрольной группах. Прямое сравнение концентрации биомаркеров в крови исследуемой группы пациентов с БА являлось основной целью проводимого исследования, учитывая патогенетическое многообразие процессов, регистрация и индикация которых в периферическом кровообращении представляла несомненный интерес для исследования.

На *рисунке 1* представлены различия в концентрации между маркерами в крови в исследуемой и контрольной группах, которые были оценены критерием Манна – Уитни с $p\text{-value} \leq 0,01$. В правой части рисунка отображены маркеры, которые показали статистически значимое повышение в группе пациентов с БА в сравнении с контрольной группой. В левой части – маркеры, концентрация которых в исследуемой группе оказалась ниже.

Определение взаимоотношений между концентрацией биомаркеров в плазме крови и ЦСЖ

Учитывая предполагаемую взаимосвязь различных патогенетических процессов при БА, а также дисфункцию ГЭБ, в дальнейшем проводилось сопоставление полученных лабораторных показателей в плазме крови и ЦСЖ с нахождением корреляционных связей между ними. Это было выполнено в том числе с целью поиска маркеров, имеющих наибольшее количество статистически значимых связей с другими маркерами, особенно имеющих различную патогенетическую основу, так как именно они, вероятно, могут представлять наибольший интерес не только в виде инструмента для углубленного изучения патогенеза болезни, но и в их предположительном потенциале в качестве новых диагностических маркеров. Для установления возможных взаимосвязей между изученными показателями в крови и ликворе был проведен корреляционный анализ (коэффициент ранговой корреляции Спирмена) (*рис. 2*).

В полученной корреляционной матрице (*рис. 1*) с уровнем значимости $p \leq 0,01$ фактор роста фибробластов-2 (FGF2-) в ЦСЖ имеет негативную корреляционную связь с растворимым CD40 лигандом (sCD40L) в плазме, лиганд fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3L) имеет позитивную корреляционную связь с интерлейкином-12P40 (IL-12p40) в плазме, уровень фракталкина в ЦСЖ имеет позитивные корреляционные связи с интерлейкином-15 и антагонистом рецептора интерлейкина-1 альфа (IL-1RA) в плазме, уровень интерферона гамма (IFN γ) в ЦСЖ имеет положительные корреляционные связи с лигандом fms-подобной тирозинкиназы 3 и интерлейкином-9 (IL-9) в плазме, белок, регулирующий рост (GRO), в ЦСЖ имеет негативную корреляционную связь с интерлейкином-5 (IL-5) в плазме, уровень интерлейкина-15 в ЦСЖ имеет позитивные

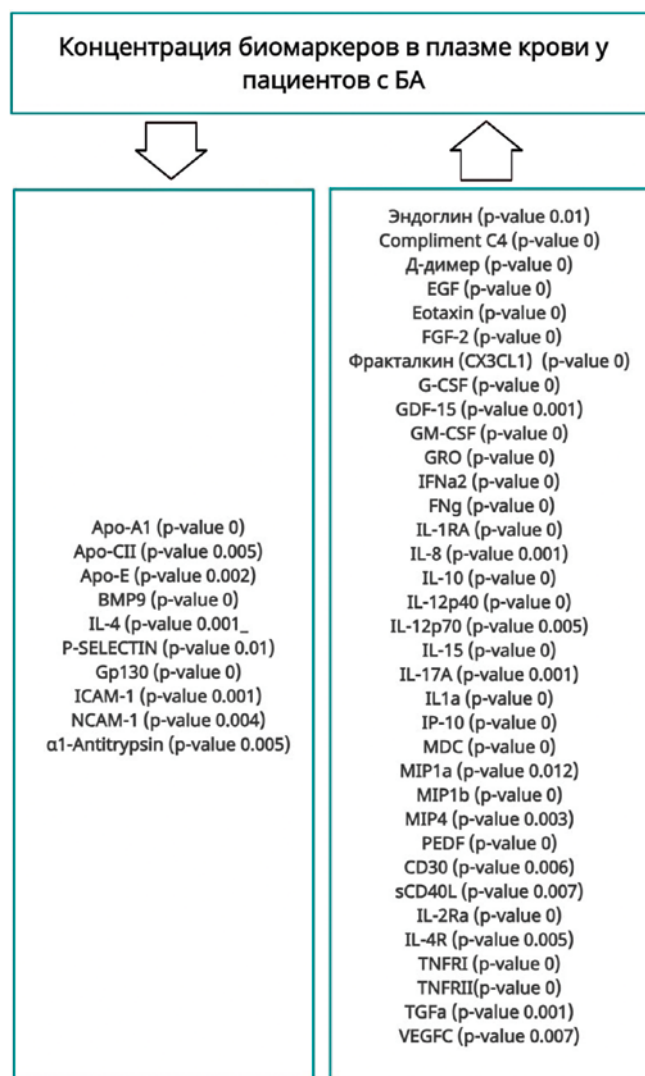


Рисунок 1. Различия в концентрации лабораторных маркеров в исследуемой группе пациентов с БА и контрольной группе

корреляции с интерлейкином-12P40 и трансформирующим фактором роста альфа (TGF α) в плазме, интерлейкин-1 альфа (IL-1 α) в ЦСЖ имеет позитивную корреляцию с интерлейкином-3 (IL-3) в плазме, интерлейкин-6 (IL-6) в ЦСЖ имеет наиболее сильную позитивную корреляционную связь в нашей матрице с уровнем интерлейкина-3 в плазме, уровень фактора некроза опухоли альфа (TNF α) в ЦСЖ имеет позитивную корреляционную связь с лигандом fms-подобной тирозинкиназы 3 и интерлейкином-9 в плазме, растворимый рецептор эпидермального фактора роста (sEGFR) в ЦСЖ имеет позитивную корреляционную связь с интерлейкином-12P40 в плазме, растворимый гликопротеин 130 в ЦСЖ имеет позитивную корреляционную связь с интерлейкином-12P40 в плазме, уровень растворимого рецептора интерлейкина1 типа 2 (sIL1R2) в ЦСЖ имеет негативную корреляционную связь с растворимым рецептором интерлейкина-4 (sIL-4R) в плазме, растворимый рецептор интерлейкина-2 альфа (sIL-2R α) в ЦСЖ имеет негативные корреляционные связи с интерлейкином-1 альфа (IL-1 α) и растворимым рецептором интерлейкина-4 (sIL-4R) в плазме, растворимый рецептор конечных продуктов гликозилирования (sRAGE) в ЦСЖ имеет позитивную

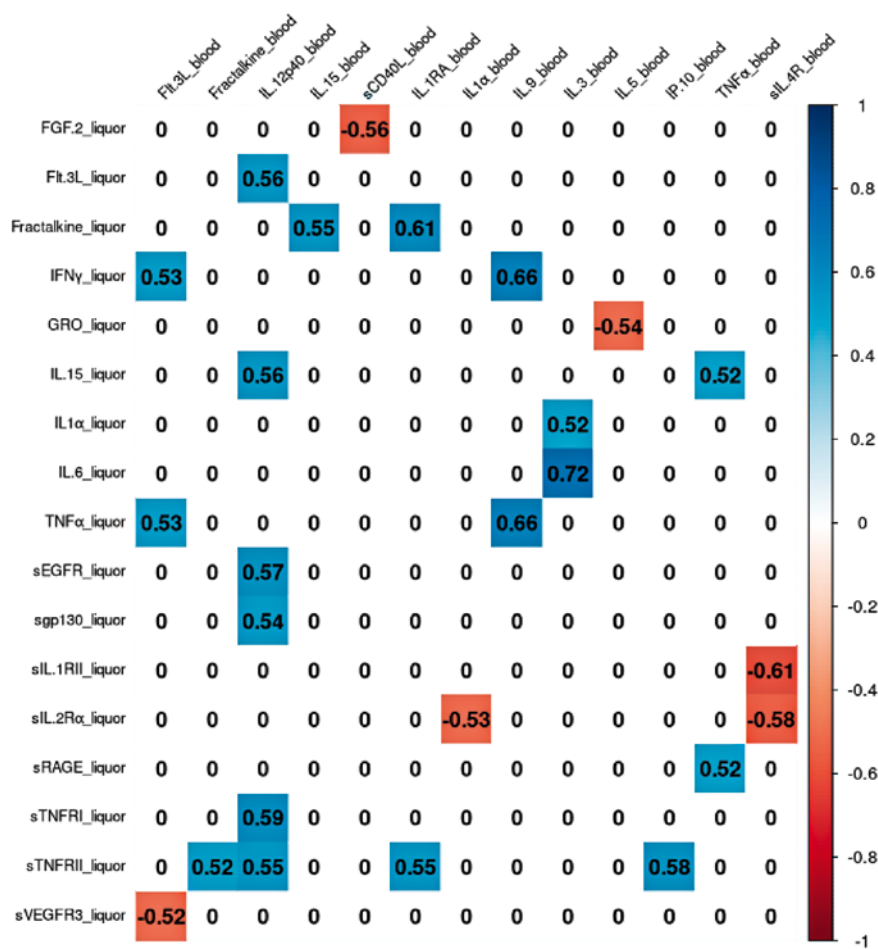


Рисунок 2. Корреляционная матрица, отражающая взаимосвязи между показателями биомаркеров в плазме крови и цереброспинальной жидкости при уровне значимости $p \leq 0,01$

корреляционную связь с фактором некроза опухоли альфа (TNF α в плазме, растворимый фактор некроза опухоли рецептора типа 1 (sTNFR-1) в ЦСЖ имеет позитивную корреляционную связь с интерлейкином-12P40 в плазме, растворимый фактор некроза опухоли рецептора типа 2 (sTNFR-2) в ЦСЖ имеет позитивные корреляционные связи с фракталкином, интерлейкином-12P40, интерлейкином-1 α , интерферон гамма индуцированным белком 10 в плазме, растворимый рецептор 3 типа фактора роста эндотелия сосудов (sVEGFR3) в ЦСЖ имеет отрицательную корреляционную связь с лигандом fms-подобной тирозинкиназы 3 в плазме.

Обсуждение

Аро-А1 необходим для биологической активности липопротеинов высокой плотности, такой как способность стимулировать процесс обратного транспорта холестерина и проявлять антиоксидантную и противовоспалительную активность. Интересно, что этот аполипопротеин не синтезируется в головном мозге, как это происходит с Аро-Е, а образуется на периферии и благодаря способности преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) посредством процессов эндоцитоза локализуется в головном мозге, выполняя важнейшую роль в сохранении цереброваскулярной целостности [43]. Количество и качество белковых компонентов липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) определяют многочисленные биологические функции этих липопротеинов, в том числе способность противодействовать атерогенезу, устойчивому воспалению и токсическим эффектам реактивных частиц. Некоторые заболевания, в патогенезе которых играют роль воспаление и окислительный стресс, характеризуются нарушением протеома ЛПВП. Наиболее распространенными белками в ЛПВП являются аполипопротеины А1 (АпоА1) и АпоА2, причем первый присутствует во всех ЛПВП человека, а второй – в 60% всех частиц [44].

В нашей работе был выявлен более низкий плазменный уровень Аро-А1 у пациентов с БА, что соответствует полученным ранее результатам, в которых демонстрировалось снижение плазменной концентрации Аро-А1 у пациентов на додементных стадиях БА, коррелировало с увеличенным риском клинического прогрессирования заболевания [15]. Ранее была показана способность Аро-А1 ингибировать бета-амилоидные бляшки и обеспечивать протекцию против амилоид-индуцированной нейротоксичности *in vitro* [13–14]. Поскольку атеросклероз является общепризнанным фактором риска БА, можно предположить, что Аро-А1 также может выполнять защитную функцию при БА. Множество данных, полученных *in vitro* и *in vivo*, позволяют предположить, что Аро-А1 в головном мозге может быть вовлечен в патологический процесс при БА, ингибировать агрегацию и способствовать клиренсу бета-амилоида [46].

Считается, что Аро-А1, присутствующий в головном мозге, в первую очередь рекрутируется из периферического кровообращения через гематоэнцефалический барьер. Другие распространенные аполипопротеины включают Аро-СIII, Аро-Е, Аро-СI, Аро-СII и Аро-М [45]. В нашем исследовании плазменная концентрация Аро-С2 была статистически значимо снижена в группе пациентов с БА. Существуют данные, свидетельствующие о влиянии хронического воспаления, которое нарушает метаболизм липопротеинов, а также вызывает самые разнообразные изменения плазменной концентрации липидов и липопротеинов [16, 17]. Так, к примеру, плазменная концентрация АроС2 была значительно снижена у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [18].

Аро-Е представляет собой гликопротеин, в основном синтезируемый печенью, а также некоторыми периферическими тканями и головным мозгом. Ген *APOE* демонстрирует генетический полиморфизм, определяемый тремя общими аллелями: *APOE2*, *APOE3* и *APOE4*. Три изоформы отличаются только заменой одной аминокислоты, что приводит к изменению структуры белка и корреляции

биологических функций. В частности, широко известно, что аллель *APOE4* является одним из значимых факторов риска развития БА, в то время как аллель *APOE2* проявляет нейропротективные свойства. Белок ApoE является одним из основных компонентов ЛПВП-подобных частиц в ЦНС, хотя он присутствует в гораздо более низкой концентрации по сравнению с ЛПВП в плазме. Частицы липопротеинов, содержащие Apo-E, обычно не способны пересекать ГЭБ, поэтому уровни Apo-E в периферическом кровотоке и ЦНС можно рассматривать как маловероятно связанные события. Ранее выявленные результаты, свидетельствующие о снижении общей плазменной концентрации Apo-E у носителей *APOE 4* [19], вероятно, совпадают с нашими данными с учетом значимого снижения ее у пациентов с БА. Мы не исследовали генотип *APOE* в нашей опытной группе, однако логично предположить, что в когорте пациентов с БА число носителей аллеля *ε4*, вероятно, будет выше.

У пациентов с сахарным диабетом (СД) 2 типа и умеренными когнитивными нарушениями (УКН) наблюдалось значительное повышение уровня D-димера в плазме по сравнению с контрольной группой ($p=0,011$). Такое повышение, вероятно, обусловлено патофизиологическими процессами СД, включающими в себя деструктивное действие на сосуды и дальнейший воспалительный каскад с тромбообразованием. Многофакторный регрессионный анализ также показал, что концентрация D-димера была независимым фактором риска развития УКН у пациентов с СД 2 типа и атеросклерозом брахиоцефальных артерий ($p=0,005$), а концентрация D-димера являлась чувствительным маркером наличия УКН с нестабильными атеросклеротическими бляшками ($p=0,028$) и индикатором наличия бляшек, значимо стенозирующих сонные артерии ($p=0,023$) [61].

Рассматривая важную роль сосудистой патологии при БА, логическим следствием этой гипотетической связи является то, что каждый кардиометаболический фактор риска может быть кандидатом в клинические предикторы БА. Таким образом, наши результаты предполагают

Распределение роли биомаркеров в процессах нейровоспаления

Провоспалительные цитокины		Противовоспалительные цитокины
IFN α	BMP 9	MIP4
IFN γ	Комплемент C4	P-селектин
IL-15	D-димер	sCD30
IL-1f	EGF	sICAM-1
IL-8	Эотаксин	sNCAM-1
sTNFR-1	Фракталкин	sIL-2Ra
sTNFR-2	G-CSF	sIL-4R
IL-12p70 (IL-12p40)	GM-CSF	TGF α
IL-17a	GDF-15	VEGF-C
sCD40L	IL-1Ra	α 1-антитрипсин
sgp130	IL-4	MIP1 β
IP10	MDC	PEDF

Рисунок 3. Распределение исследуемых биомаркеров в соответствии с их патогенетической ролью в нейровоспалительных процессах при БА

потенциал кардиометаболических маркеров, таких как различные аполипопротеины, в будущем поиске эффективных диагностических биомаркеров и их панелей, так как их индикация в периферическом кровотоке у пациентов с БА и патогенетическая обоснованность делают это возможным.

На рисунке 3 представлена структура групп биомаркеров в зависимости от своей патогенетической роли при нейровоспалении в головном мозге при БА, продемонстрировавших статистически значимые результаты в нашей работе. В левом столбце находятся провоспалительные маркеры, в правом – противовоспалительные.

Плазменная концентрация провоспалительных цитокинов, таких как IFN α , IFN γ , IL-15, IL-1a, IL-8, sTNFR-1, sTNFR-2, IL-12p70 (включая его субъединицу IL-12p40), IL-17a, sCD40L, sgp130, IP10, эндоглина в результатах нашего исследования выше у пациентов с БА, чем у пациентов контрольной группы, что позволяет предположить, что плазменные биомаркеры воспалительного процесса являются индикаторами нейродегенерации центральной нервной системы, которую возможно идентифицировать в периферическом кровотоке. Анализируя роль исследуемых нами провоспалительных маркеров, мы сопоставили наши результаты и исследовали предыдущие данные о нейровоспалении при БА. Так, бета-амилоид также увеличивает выработку активных форм азота и кислорода клетками микроглии, что приводит к развитию окислительного стресса, стимуляции клеток Th17 и продукции IL-17. По-видимому, основная роль IL-17 в патогенезе БА заключается в привлечении нейтрофилов и стимуляции их функции. Было показано, что агрегаты бета-амилоида опосредуют хемотаксис и рекрутирование нейтрофилов в ЦНС у мышей со сверхэкспрессией человеческого мутантного белка-предшественника амилоида (APP), который продуцирует IL-17 и, таким образом, усиливает проникновение нейтрофилов в ЦНС [49]. Более высокая доля клеток Th17 была отмечена в периферической крови пациентов с УКН при БА, чем у субъектов с УКН из-за патологий, отличных от БА, и у здоровых людей [50]. Также сообщалось, что IL-17 и IL-10 являются чувствительными плазменными биомаркерами, позволяющими дифференцировать пациентов с БА от лиц без когнитивных нарушений. Полученные данные концентраций sTNFR-1 и sTNFR-2 согласуются с предыдущими полученными данными, свидетельствующими об их более значимом повышении у пациентов с БА, чем у пациентов с УКН и здоровыми людьми.

Эндоглин является трансмембранным гликопротеином I типа, который в основном экспрессируется в эндотелиальных клетках сосудов и активированных моноцитах [58]. Растворимая форма эндоглина значительно увеличивает уровни микроРНК VEGF-A, TNF α , IL-6 и MMP-9 и других модуляторов воспаления, включая NLRP3, каспазу-1 и IL-1 β . Данные демонстрируют, что растворимая форма эндоглина индуцирует воспалительные реакции в микроглии [59].

Группа противовоспалительных цитокинов и хемокинов, факторов роста, различных белков, ассоциированных с воспалением, молекул клеточной адгезии, таких как G-CSF1, BMP9, комплемент C4, D-димер, EGF, эотаксин, фракталкин, G-CSF, GM-CSF, GDF-15, IL-1RA, IL-4, MDC, MIP1 β , MIP4, P-селектин, PEDF, sCD 30, sICAM-1, sNCAM-1, sIL-2ra, sIL-4r, TGF α VEGF-C, альфа-1-антитрипсин, продемонстрировала в результатах нашей работы статистически значимую разницу ($p \leq 0,01$) в плазменной концентрации между группой пациентов с БА и контрольной группы, не имеющей когнитивных нарушений. Как известно, нарушение баланса между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами в пользу последних приводит к циклу дальнейшего производства цитокинов и их синергизма, а также к дальнейшей клеточной активации [20]. IL-4 играет важную защитную роль при БА, регулируя фенотип микроглии, фагоцитоз бета-амилоида и секрецию противовоспалительных и нейротрофических цитокинов. IL-4 является самым сильным поляризующим фактором фенотипа M2 микроглии [52], причем не только участвуя в поляризации микроглии до протективного фенотипа [53], но и уменьшая нейровоспалительные процессы [54]. Одно из исследований альфа-1-антитрипсина показало его возможность уменьшать активацию NLRP3-инфламмосомы в стимулированных бета-амилоидом (который, как известно, оказывает дозозависимое цитотоксическое действие на астроциты) астроцитах на животной модели [57].

Полученные нами различия в концентрации комплемента C4 в исследуемой группе согласуются с ранее полученными данными о том, что патологический амилоидоз активирует систему комплемента, которая является частью иммунной системы и удаляет патологические с точки зрения иммунной системы элементы посредством фагоцитоза [21]. В недавнем исследовании также были определены различия комплемента C4 в слюне у пациентов с БА, концентрация которого оказывалась выше, чем у пациентов контрольной группы [60]. Взаимосвязь значений различных факторов роста с альцгеймеровской патологией заключается в том, что нарушение клиренса ЦСЖ приводит к недостатку различных трофических факторов и накоплению токсических агентов [20]. Нами получены данные, свидетельствующие о повышении плазменной концентрации факторов роста: GDF15, PEDF, EGF1, VEGF-C, TGF α у пациентов с БА ($p \leq 0,01$). Роль некоторых ростовых факторов, таких как различные изоформы VEGF, заключается в запуске провоспалительного каскада, при котором повышается эндотелиальная проницаемость, индуцируется экспрессия молекул клеточной адгезии, а также они являются хемоаттрактантами моноцитов [22]. К примеру, VEGF-C может иметь терапевтический потенциал в лечении возрастных нейродегенеративных заболеваний, в которых решающую роль играет менингеальная лимфатическая дисфункция. VEGF-C может увеличивать диаметр менингеальных лимфатических сосудов, а также улучшать прорастание и функцию периферических лимфатических сосудов [62]. Наши результаты продемонстрировали значимые различия в виде повышения концентрации молекул клеточной адгезии sICAM-1 и sNCAM-1 ($p \leq 0,01$), что, вероятно, может быть интерпретировано как очередной периферической индикатор цереброваскулярной эндотелиальной дисфункции при БА.

Снижение уровня sICAM-1, как это частично описано при шизофрении, может быть результатом дисфункции нейроэндокринно-иммунной связи, при которой адекватный иммунный ответ не развивается или, наоборот, происходит пролонгация нейровоспалительного процесса. Уменьшение количества переносимых иммунных клеток через ГЭБ из периферического кровотока в ЦНС или наоборот может, следовательно, ограничивать или усиливать центральную или периферическую провоспалительную передачу сигналов или обеспечивать одновременно оба этих процесса [55]. Другая интерпретация может заключаться в том, что при определенных патологических состояниях ГЭБ является гипопроницаемым, что предотвращает адекватный молекулярный обмен между ЦНС и периферической иммунной системой и не позволяет устранить иммунную активацию в ЦНС. Повышенные уровни sICAM-1 отражают, по крайней мере, частичное разрушение ГЭБ с инвазией провоспалительных молекул в ЦНС. Эта инвазия необходима для устранения инфекционного или воспалительного процесса в ЦНС, однако, как только процесс завершится, воспаление должно быть подавлено, то есть количество противовоспалительных молекул в ЦНС и в ГЭБ должно быть увеличено. Нарушение этого регуляторного процесса может быть ключевым фактором различной патологии ЦНС, в том числе и БА [56]. Также необходимо отметить, что полученный нами результат, касающийся гемопоэтических факторов, таких как GM-CSF, G-CSF1, G-CSF в виде повышения их плазменного уровня у группы с БА ($p \leq 0,01$), представляет несомненный интерес, учитывая, что они вносят значимый вклад в процессы нейропоза, усиливая нейрогенез при прогрессировании альцгеймеровской патологии [23].

Анализируя результаты, полученные в виде корреляционной матрицы между биомаркерами в ЦСЖ и плазме крови, мы наблюдаем статистически значимые ($p \leq 0,01$) разнонаправленные взаимодействия, к примеру, позитивные корреляционные связи между двумя провоспалительными агентами, такие как: IL-15–IL-12p40, sgp130–IL-12p40, sRAGE–TNF α , sTNFR-1–IL-12p40, sTNFR-2–IL-12p40, sTNFR-2–IL-1 α , IFN γ –IL-9, TNF α –IL-9, sTNFR-2–IP10. Исходя из полученных нами результатов, мы предполагаем, что субъединица 40 интерлейкина 12 (IL-12p40) является наиболее интересным биомаркером индикации воспалительного процесса ЦНС в периферической крови. Также были получены позитивные корреляционные связи между двумя противовоспалительными биомаркерами в ЦСЖ и плазме крови, например: фракталкин – IL-1RA, sIL1R2–sIL4R, sVEGFR3–FLT3L. Большинство же полученных результатов представляли собой позитивные и негативные корреляционные связи между агентами с полярным функционалом, и опять же IL-12p40 в плазме продемонстрировал наибольшее количество значимых позитивных взаимодействий, в том числе и с биомаркерами протективных функций в ЦСЖ, такими как фракталкин и sVEGFR, что опять же подтверждает высказанное ранее предположение о вероятном потенциале данного цитокина в качестве диагностического и патогенетического маркера.

Предыдущие исследования IL-12p40 показывали, что, хотя он оказывается значительно вовлечен в патологический процесс в ранних стадиях БА, способность клеток

вырабатывать этот цитокин снижается по мере прогрессирования заболевания, что указывает на снижение иммунного ответа при АД [25]. IL-12p40 вырабатывается посредством активных воспалительных процессов различными клетками, включая макрофаги, нейтрофилы, микроглию, и дендритными клетками при их стимуляции различными патогенными или воспалительными агентами [63]. IL-12p40 является компонентом IL-12p70 и IL-23, однако в отличие от них может производиться в избытке в отличие от других субъединиц IL-12 и IL-23. Его наиболее широко известная функция заключается в обеспечении отрицательной обратной связи путем конкурентного связывания с рецептором IL-12. Однако IL-12p40 действует как хемоаттрактант для макрофагов и способствует миграции стимулированных воспалением или инфекционными агентами дендритных клеток. Ранее, на животной модели, повышение уровня IL-12p40 в ЦСЖ значительно коррелировало с когнитивной функцией [26]. В выполненном исследовании, в котором подавлялся сигнальный путь IL-12/IL-23, отмечалось уменьшение процессов патологического амилоидоза, периферическое введение нейтрализующего p40-специфического антитела к IL-12p40 также приводило к снижению церебральной амилоидной нагрузки на модели с животными. Кроме того, интрацеребровентрикулярная доставка антител к IL-12p40 значительно снижала концентрацию амилоидных бляшек, вследствие чего наблюдался регресс когнитивных нарушений. Концентрация p40 также была увеличена в спинномозговой жидкости пациентов с БА, что позволяет предположить, что ингибирование пути IL-12/IL-23 может ослаблять развитие нейровоспаления и нейродегенерации [27, 65]. Представляется интересным и то, что потенциальная связь уровней IL-12p40 с умеренными когнитивными нарушениями и деменцией при БА была также подчеркнута недавним мультианалитическим исследованием плазменных биомаркеров [28].

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительной роли нейровоспаления, нарушения ангиогенеза, дисфункции ГЭБ в патологическом процессе, происходящем при БА. Нами были выявлены патогенетически обоснованные плазменные биомаркеры, аффилированные с различными звеньями патогенеза БА. Биомаркеры липидного обмена, такие как Apo-A1, Apo-CII, в периферическом кровотоке могут рассматриваться как индикаторы сосудисто-нейродегенеративного процесса. Провоспалительные цитокины (IFN α , IFN γ , IL-15, IL-1a, IL-8, sTNFR-1, sTNFR-2, IL-12p70 [включая его субъединицу IL-12p40], IL-17a, sCD40L, sgp130, IP10, эндоглин) и противовоспалительные биомаркеры (G-CSF1, BMP9, комплемент C4, D-димер, EFG1, зотаксин, фракталкин, G-CSF, GM-CSF, GDF-15, IL-1RA, IL-4, MDC, MIP1 β , MIP4, P-селектин, PEDF, sCD30, sICAM-1, sNCAM-1, sIL2ra, sIL4r, TGF α VEGF-C, альфа-1-антитрипсин) в плазме крови, на наш взгляд, могут являться кандидатами в будущие эффективные диагностические лабораторные биомаркеры. Особенно целесообразно их использование в виде комбинаций и панелей с максимальной чувствительностью и специфичностью, которые пройдут необходимую валидацию и могут быть внедрены в клиническую практику. Наиболее перспективным

биомаркером представляется субъединица 40 интерлейкина 12 (IL-12p40), так как было показано и ее повышение в плазме крови пациентов с БА в отличие от контрольной группы и наибольшее количество корреляций ее плазменного уровня с другими биомаркерами в ЦСЖ.

Список литературы / References

1. Литвиненко И.В., Лобзин В.Ю., Емелин А.Ю., Колмакова К.А., Лупанов И.А. Роль нейровоспаления в развитии болезни Альцгеймера. Известия Российской Военно-медицинской академии. 2022; 41 (54): 50–56.
2. Litvinenko I.V., Lobzin V. Yu., Emelin A. Yu., Kolmakova K. A., Lupanov I. A. The role of neuroinflammation in the development of Alzheimer's disease. Proceedings of the Russian Military Medical Academy. 2022; 41 (54): 50–56. [In Russ.].
3. Wohleb E.S., Powell N.D., Godbout J.P., Sheridan J.F. Stress-induced recruitment of bone marrow-derived monocytes to the brain promotes anxiety-like behavior. *J. Neurosci.* 2013; 33: 13820–13833.
4. Sochoka M., Diniz B.S., Leszek J. Inflammatory responses in the CNS: Fried or foe? *Mol. Neurobiol.* 2017; 54: 8071–8089.
5. McGeer P.L., Rogers J., McGeer E.G. Inflammation, antiinflammatory agents, and Alzheimer's disease: The last 22 years. *J. Alzheimer's Dis.* 2016; 54: 853–857.
6. Pasinetti G.M. From epidemiology to therapeutic trials with anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease: The role of NSAIDs and cyclooxygenase in β -amyloidosis and clinical dementia 1. *J. Alzheimer's Dis.* 2002; 4: 435–445.
7. Harder D.R., Zhang C., Gebremedhin D. Astrocytes function in matching blood flow to metabolic activity. *News Physiol. Sci.* 2002; 17: 27–31.
8. Zlokovic B.V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.* 2008; 57: 178–201.
9. Abboff N.J., Friedman A. Overview and introduction: The blood-brain barrier in health and disease. *Epilepsia.* 2012; 53: 1–6.
10. Kim J.-B., Yu Y.-M., Kim S.-W., Lee J.-K. Anti-inflammatory mechanism is involved in ethyl pyruvate-mediated efficacious neuroprotection in the postischemic brain. *Brain Res.* 2005; 1060: 188–192.
11. Albert M.S., DeKosky S.T., Dickson D. et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011 May; 7 (3): 270–9. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.008. Epub 2011 Apr 21.
12. Sperling R.A., Aisen P.S., Beckett L.A. et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011 May; 7 (3): 280–92. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.003. Epub 2011 Apr 21.
13. McKhann G.M., Knopman D.S., Chertkow H. et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011 May; 7 (3): 263–9. DOI: 10.1016/j.jalz.2011.03.005. Epub 2011 Apr 21.
14. Paula-Lima A.C., Tricerri M.A., Brito-Moreira J., Bomfim T.R., Oliveira F.F., Magdesian M.H., Grinberg L.T., Panizzutti R., Ferreira S.T. Human apolipoprotein A-I binds amyloid-beta and prevents Abeta-induced neurotoxicity. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2009; 41: 1361–1370.
15. Lefterov I., Fitz N.F., Cronican A.A., Fogg A., Lefterov P., Kodali R., Wetzel R., Koldamova R. Apolipoprotein A-I deficiency increases cerebral amyloid angiopathy and cognitive deficits in APP/PS1 DeltaE9 mice. *J. Biol. Chem.* 2010; (285): 36945–36957.
16. Slot RER, Van Harten A.C., Kester M.I., Jongbloed W., Bouwman F.H., Teunissen C.E., Scheffens P., Veerhuis R., van der Flier W.M. Apolipoprotein A1 in Cerebrospinal Fluid and Plasma and Progression to Alzheimer's Disease in Non-Demented Elderly. *J. Alzheimers Dis.* 2017; 56 (2): 687–697.
17. Haas M.J., Mooradian A.D. Inflammation, high-density lipoprotein and cardiovascular dysfunction. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2011; 24: 265–72.
18. Gazi I.F., Apostolou F.A., Liberopoulos EN. et al. Leptospirosis is associated with markedly increased triglycerides and small dense low-density lipoprotein and decreased high-density lipoprotein. *Lipids.* 2011; 46: 953–60.
19. Ripolles Piquer B., Nazih H., Bourrelle A. et al. Altered lipid, apolipoprotein, and lipoprotein profiles in inflammatory bowel disease: consequences on the cholesterol efflux capacity of serum using Fu5AH cell system. *Metabolism.* 2006; 55: 980–8.
20. Martinez-Morillo Eduardo, Hansson Oskar, Atagi Yuko, Bu Guojun, Minthon Lennart, Diamandis Eleftherios, Nielsen Henriette. Total apolipoprotein E levels and specific isoform composition in cerebrospinal fluid and plasma from Alzheimer's disease patients and controls. *Acta Neuropathol.* 2014 May; 127 (5): 633–43. DOI: 10.1007/s00401-014-1266-2. Epub 2014 Mar 15.
21. Ogunmokun Gilbert, Dewanjee Saikat, Chakraborty Pratik, Valupadas Chandrasekhar, Chaudhary Anupama, Kolli Viswakalyan, Anand Utpal, Vallamkonda Jayalakshmi, Goel Parul, Prasad Reddy Paluru Hari, Dip Gill Kiran, Reddy P Hemachandra, De Feo Vincenzo, Kandamallam Ramesh. The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Cells.* 2021 Oct 18; 10 (10): 2790. DOI: 10.3390/cells10102790
22. Rubio-Perez J.M., Morillas-Ruiz J.M. A review: Inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. *Sci. World J.* 2012; 2012: 756357.
23. Zachary I. Signaling mechanisms mediating vascular protective actions of vascular endothelial growth factor. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2001; 280: C1375–C1386.
24. Jin K., Peel A.L., Mao X.O., Xie L., Cottrell B.A., Henshall D.C., Greenberg D.A. Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 343–347.
25. Alasmari F., Alshammari M.A., Alasmari A.F., Alanazi W.A., Alhazzani K. Neuroinflammatory Cytokines Induce Amyloid Beta Neurotoxicity through Modulating Amyloid Precursor Protein Levels. *Metabolism. Biomed. Res.* 2018; 2018: 3087475.
26. Richartz E. et al. Decline of immune responsiveness: a pathogenic factor in Alzheimer's disease? *Journal of psychiatric research.* 2005; 39: 535–543. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2004.12.005>
27. Tan M-S, Yu J-T, Jiang T, Zhu X-C, Guan H-S, Tan L. IL12/23 p40 inhibition ameliorates Alzheimer's disease-associated neuropathology and spatial memory in SAMP8 Mice. *JAD.* 2013; 38: 633–646. DOI: 10.3233/JAD-131148
28. Berg J, Prokop S, Miller KR. et al. Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. *Nat Med.* 2012; 18: 1812–1819. DOI: 10.1038/nm.2965
29. Hu WT, Holtzman DM, Fagan AM. et al. Plasma multi-analyte profiling in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology.* 2012; 9: 897–905. DOI: 10.1212/WNL.0b013e318266fa70

29. Bagyinszky E. et al. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. *J. Neurological Sci.* 2017; 376: 242–254.
30. Latta CH, Brothers HM, Wilcock DM. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: A source of heterogeneity and target for personalized therapy. *Neuroscience*. 2015 Aug 27; 302: 103–11. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.09.061. Epub 2014 Oct 5. PMID: 25286385; PMCID: PMC4602369.
31. Phillips E. C. et al. Astrocytes and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Biochemical Soc. Trans.* 2014; 42: 1321–1325.
32. Li Q, Barres BA. Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018; 18: 225–42. DOI: 10.1038/nri.2017.125
33. Schafer DP, Stevens B. Microglia function in central nervous system development and plasticity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015; 7: a020545. DOI: 10.1101/cshperspect.a020545
34. McFarland KN, Chakrabarty P. Microglia in Alzheimer's Disease: a Key Player in the Transition Between Homeostasis and Pathogenesis. *Neurotherapeutics*. 2022; 19: 186–208. DOI: 10.1007/s13311-021-01179-3
35. Preman P, Alfonso-Triguero M., Alberdi E., Verkhratsky A., Arranz A. Astrocytes in Alzheimer's Disease: Pathological Significance and Molecular Pathways. *Cells*. 2021; 10: 540.
36. Gamage R., Wagnon I., Rossetti L., Childs R., Niedermayer G., Chesworth R., Gyengesi E. Cholinergic Modulation of Glial Function During Aging and Chronic Neuroinflammation. *Front. Cell. Neurosci.* 2020; 14: 577912.
37. Hylén U., Eklund D., Humble M., Bartoszek J., Samdahl E., Bejerot S. Increased inflammation activity in markedly ill psychiatric patients: An explorative study. *J. Neuroimmunol.* 2020; 339: 577119.
38. Preman P., Alfonso-Triguero M., Alberdi E., Verkhratsky A., Arranz A. Astrocytes in Alzheimer's Disease: Pathological Significance and Molecular Pathways. *Cells*. 2021; 10: 540.
39. Одинак М.М., Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю. Нарушение когнитивных функций при цереброваскулярной патологии. СПб., 2022: 229.
40. Одинак М.М., Емелин А.Ю., Лобзин В.Ю. Cognitive impairment in cerebrovascular pathology. St. Petersburg, 2022: 229. [In Russ.].
41. Лобзин В.Ю. Сосудисто-нейродегенеративные когнитивные нарушения (патогенез, клинические проявления, ранняя и дифференциальная диагностика): дис. ... докт. мед. наук. Санкт-Петербург, 2016. С. 333.
42. Lobzin V. Yu. Vascular neurodegenerative cognitive disorders (pathogenesis, clinical manifestations, early and differential diagnosis): dis. ... Doctor of Medical Sciences. Saint Petersburg, 2016. P. 333. [In Russ.].
43. Колмакова К.А. Нарушение церебральной и системной гемодинамики при болезни Альцгеймера: специальность 14.01.11 Нервные болезни: дис. ... канд. мед. наук / Колмакова Кристина Андреевна, 2020. 149 с.
44. Kolmakova K.A. Impaired cerebral and systemic hemodynamics in Alzheimer's disease: specialty 14.01.11 «Nervous diseases»: dis. ... Candidate of Medical Sciences / Kolmakova Kristina Andreevna, 2020. 149 p. [In Russ.].
45. Alvarez-Vergara M.L., Rosales-Nieves A.E., March-Diaz R. et al. Non-productive angiogenesis disassembles Aβ plaque-associated blood vessels. *Nat Commun.* 2021; 12: 3098. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23337-z>
46. Zimetti F., Adorni M.P., Marsillich J., Marchi C., Trentini A., Valacchi G., Cervellati C. (2021). Connection between the altered HDL antioxidant and anti-inflammatory properties and the risk to develop Alzheimer's disease: a narrative review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021.
47. Ouimet M., Barrett T.J., Fisher E. A. Review Basic Mechanisms and Their Roles in Vascular Health and Disease. *Circ. Res.* 2019; 124: 1505–1518.
48. Shao B., Heinecke J. W. Quantifying HDL proteins by mass spectrometry: how many proteins are there and what are their functions? Expert review of proteomics. 2018; 15(1): 31–40.
49. Marsillich J., Adorni M.P., Zimetti F., Papotti B., Zuliani G., Cervellati C. HDL Proteome and Alzheimer's Disease: Evidence of a Link. *Antioxidants*. 2020; 9 (12): 1224.
50. Zhou A.L., Swaminathan S.K., Curran G.L., Poduslo J.F., Lowe V.J., Li L., Kandimala K.K. Apolipoprotein AI crosses the blood-brain barrier through clathrin-independent and cholesterol-mediated endocytosis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2019; 369 (3): 481–488.
51. Zhou A.L., Swaminathan S.K., Curran G.L., Poduslo J.F., Lowe V.J., Li L., Kandimala K.K. Apolipoprotein AI crosses the blood-brain barrier through clathrin-independent and cholesterol-mediated endocytosis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2019; 369 (3): 481–488.
52. Zenaro E., Pietronigro E., Bianca V.D., Piacentini G., Marangiu L., Budui S., Constantin G. Neutrophils promote Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline via LFA-1 integrin. *Nature medicine*. 2015; 21 (8): 880–886.
53. Oberstein T.J., Taha L., Spitzer P., Hellstern J., Herrmann M., Kornhuber J., Maler J.M. Imbalance of circulating Th17 and regulatory T cells in Alzheimer's disease: a case control study. *Frontiers in immunology*. 2018; 9: 1213.
54. Doecke J.D., Laws S.M., Faux N.G., Wilson W., Burnham S.C., Lam C.P., Lifestyle Research Group. Blood-based protein biomarkers for diagnosis of Alzheimer disease. *Archives of neurology*. 2012; 69 (10): 1318–1325.
55. Gordon S., Martinez F.O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*. 2010; 32 (5): 593–60.
56. Kawahara K., Suenobu M., Yoshida A., Koga K., Hyodo A., Ohtsuka H., Nakayama H. Intracerebral microinjection of interleukin-4/interleukin-13 reduces β-amyloid accumulation in the ipsilateral side and improves cognitive deficits in young amyloid precursor protein 23 mice. *Neuroscience*. 2012; 207: 243–260.
57. Suh H.S., Zhao M.L., Derico L., Choi N., Lee S.C. Insulin-like growth factor 1 and 2 (IGF1, IGF2) expression in human microglia: differential regulation by inflammatory mediators. *Journal of neuroinflammation*. 2013; 10 (1): 1–12.
58. Althubaiti N., Rust M., Schubert J., Martins D., Yousaf T., Netfisi M.A., Mondelli V., Veronese M. Choroid plexus enlargement is associated with neuroinflammation and reduction of blood brain barrier permeability in depression. *NeuroImage: Clinical*. 2022; 33: 102926.
59. Müller N. The role of intercellular adhesion molecule-1 in the pathogenesis of psychiatric disorders. *Frontiers in Pharmacology*. 2019; 10: 1251.
60. Ebrahimi T., Rust M., Kaiser S.N., Slowik A., Beyer C., Koczulla A.R., Bach J.P. α1-antitrypsin mitigates NLRP3-inflammasome activation in amyloid β1–42-stimulated murine astrocytes. *Journal of neuroinflammation*. 2018; 15 (1): 1–15.
61. Rossi E., Bernabeu C., Smadja D.M. Endoglin as an adhesion molecule in mature and progenitor endothelial cells: a function beyond TGF-β. *Frontiers in Medicine*. 2019; 6: 10.
62. Park E.S., Kim S., Yoo D.C., Savarraj J.P., Choi H.A., Chen P.R., Kim E. Soluble Endoglin Stimulates Inflammatory and Angiogenic Responses in Microglia That Are Associated with Endothelial Dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23 (3): 1225.
63. Tvarionaviciute A., Zamora C., Ceron J.J., Bravo-Cantero A.F., Pardo-Marin L., Valverde S., Lopez-Jornet P. Salivary biomarkers in Alzheimer's disease. *Clinical Oral Investigations*. 2020; 24 (10): 3437–3444.
64. Wang J., Huang R., Tian S., Lin H., Guo D., An K., Wang S. Elevated plasma level of D-dimer predicts the high risk of early cognitive impairment in type 2 diabetic patients as carotid artery plaques become vulnerable or get aggravated. *Current Alzheimer Research*. 2019; 16 (5): 396–404.
65. Karkkainen M.J., Saaristo A., Jussila L., Karila K.A., Lawrence E.C., Pajusola K., Alitalo K. A model for gene therapy of human hereditary lymphedema. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001; 98 (22): 12677–12682.
66. Trinchieri G. et al. The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity*. 2003; 19: 641–644.
67. Cooper AM, Khader SA. IL-12p40: an inherently agonistic cytokine. *Trends Immunol.* 2007 Jan; 28 (1): 33–8. DOI: 10.1016/j.it.2006.11.002. Epub 2006 Nov 28. PMID: 17126601.
68. Vom Berg J., Prokop S., Miller KR, Obst J, Kälin RE, Lopategui-Cabezas I, Wegner A, Mair F, Schipke CG, Peters O, Winter Y, Becher B, Heppner FL. Inhibition of IL-12/IL-23 signaling reduces Alzheimer's disease-like pathology and cognitive decline. *Nat Med*. 2012 Dec; 18 (12): 1812–9. DOI: 10.1038/nm.2965. Epub 2012 Nov 25. PMID: 23178247.

Статья поступила / Received 29.01.2025
Получена после рецензирования / Revised 06.02.2025
Принята к публикации / Accepted 07.02.2025

Сведения об авторах

Миночкин Алевкс Константинович, зав. многопрофильным отделением¹, ассистент кафедры последипломного образования². ORCID: 0000-0002-1190-0886
Лобзин Владимир Юрьевич, д.м.н., проф., зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии³, проф. кафедры нервных болезней³. ORCID: 0000-0003-3109-8795
Сушенцева Наталья Николаевна, начальник научно-исследовательской лаборатории трансляционной медицины¹. ORCID: 0000-0002-5100-5229
Попов Олег Сергеевич, биостатистик научно-исследовательской лаборатории трансляционной медицины¹. ORCID: 0000-0003-1778-0165
Апалько Светлана Вячеславовна, к.б.н., начальник научно-исследовательской лаборатории трансляционной биомедицины и лаборатории медико-генетических и геномных исследований¹. ORCID: 0000-0002-3853-4185
Коптева Юлия Павловна, врач кабинета КТ и МРТ рентгеновского отделения¹, ассистент кафедры последипломного образования². ORCID: 0009-0001-1223-0255
Пonomareva Svetlana Дмитриевна, младший научный сотрудник Медицинского института². ORCID: 0009-0000-5167-5110
Шербак Сергей Григорьевич, д.м.н., проф., главный врач¹, зав. кафедрой последипломного образования². ORCID: 0000-0001-5036-1259

¹ СПб ГБУЗ «Городская больница № 40 Курортного административного района» Минздрава России, Сестрорецк, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

Автор для переписки: Миночкин Алевкс Константинович.
E-mail: alesminochkin@gmail.com

About authors

Minochkin Ales K., head of Multidisciplinary Dept¹, assistant at Postgraduate Education Dept². ORCID: 0000-0002-1190-0886
Lobzin Vladimir Yu., DM Sci (habil.), professor, head of Dept of Neurology and Neurosurgery³, professor at Dept of Nervous Diseases³. ORCID: 0000-0003-3109-8795
Sushentseva Natalia N., head of the Scientific Research Laboratory of Translational Medicine¹. ORCID: 0000-0002-5100-5229
Popov Oleg S., biostatistician at the Translational Medicine Research Laboratory¹. ORCID: 0000-0003-1778-0165
Apalko Svetlana V., PhD Bio Sci, head of the Translational Biomedicine Research Laboratory and the Laboratory of Medical, Genetic and Genomic Research¹. ORCID: 0000-0002-3853-4185
Kopteva Yulia P., physician of the CT and MRI room of the X-ray Dept¹, assistant at Postgraduate Education Dept². ORCID: 0009-0001-1223-0255
Ponomareva Svetlana D., junior researcher at Medical Institute². ORCID: 0009-0000-5167-5110
Shcherbak Sergey G., DM Sci (habil.), professor, chief physician¹, head of Postgraduate Education Dept². ORCID: 0000-0001-5036-1259

¹ Kurortny Administrative District City Hospital № 40, Ministry of Health of Russia, Sestroretsk, St. Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of Russia, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Minochkin Ales K. E-mail: alesminochkin@gmail.com

Для цитирования: Миночкин А.К., Лобзин В.Ю., Сушенцева Н.Н., Попов О.С., Апалько С.В., Коптева Ю.П., Пonomareva С.Д., Шербак С.Г. Биомаркеры нейровоспаления и микроциркуляторной дисфункции при болезни Альцгеймера: комплексная оценка патогенетической и диагностической роли. *Медицинский алфавит*. 2025; (2): 29–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-2-29-38>

For citation: Minochkin A.K., Lobzin V.Yu., Sushentseva N.N., Popov O.S., Apalko S.V., Kopteva Yu.P., Ponomareva S.D., Shcherbak S.G. Biomarkers of neuroinflammation and microcirculatory dysfunction in Alzheimer's disease: a comprehensive assessment of the pathogenetic and diagnostic role. *Medical alphabet*. 2025; (2): 29–38. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-2-29-38>

