

Карагандинский медицинский университет

УДК 577.15:616.34-008.8/894-07

На правах рукописи

ЖОЛДАСБЕКОВА ГУЛЬНАЗ МУХТАРОВНА

**Оценка биохимических параметров, цитокинового профиля и микробиома
кишечника у пациентов с болезнью Альцгеймера**

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

8D10100 – Медицина

Научный консультант
кандидат медицинских наук
Д.А. Ключев,

Научный консультант
доктор PhD,
профессор
Ш.Н. Аскарова,

Научный консультант
кандидат медицинских наук,
доцент
Д.С. Альжанова

Научный консультант
доктор PhD
Varvara Kozyreva
(California Department of Public Health)

Республика Казахстан
Караганда, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
ВВЕДЕНИЕ	8
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Этиология и факторы риска болезни Альцгеймера	12
1.1.1 Болезнь Альцгеймера: патогенез, клиника, лечение.....	12
1.1.2 Современные теории болезни Альцгеймера: амилоидная, тау-теория, холинергическая теория.....	18
1.1.2.1 Холинергическая теория. Изменение нейромедиаторной системы	18
1.1.2.2 Амилоидная теория.....	19
1.1.2.3 Нейроваскулярная теория.....	19
1.1.2.4 Теория митохондриального каскада.....	20
1.1.2.5 Теория тау белков.....	20
1.1.3 Влияние социально-демографических и клинических показателей на развитие заболевания.....	20
1.1.3.1 Социально-демографические факторы (пол, место рождения и место проживания, образование, курение, алкоголь).....	20
1.1.3.2 Сопутствующие заболевания.....	22
1.1.3.2.1 Депрессия.....	23
1.2 Роль биохимических показателей крови в патогенезе болезни Альцгеймера.....	24
1.2.1 Ферменты печени.....	24
1.2.2 Метаболизм глюкозы и инсулина.....	25
1.2.3 Липиды крови.....	26
1.3 Роль периферического воспаления в патогенезе болезни Альцгеймера.....	28
1.3.1 Цитокины.....	28
1.3.2 С-реактивный белок.....	32
1.3.3 Провоспалительные цитокины.....	33
1.3.4 Противовоспалительные цитокины.....	35
1.4 Роль микробиоты кишечника в патогенезе болезни Альцгеймера.....	37
1.4.1 Микробиоценоз кишечника.....	37
1.4.2 Ось мозг-кишечник-микробиота.....	38
1.4.3 Кишечный микробиом, нейровоспаление нейродегенерация.....	41
1.4.4 Возможные механизмы, лежащие в основе влияния кишечного микробиома на болезнь Альцгеймера.....	43
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	47
2.1 Верификация диагноза болезни Альцгеймера.....	47
2.2 Лабораторные методы исследования.....	50
2.2.1 Биохимический анализ крови.....	50
2.2.2 Анализ цитокинов и хемокинов с использованием MILLIPLEX	

MapHuman Cytokine/ Magnetic Beas Panel на технологии Luminex xMAP	
Human Cytokine/ Magnetic Beas Panel на технологии Luminex xMAP.....	51
2.2.3 Анализ кишечного микробиома.....	51
2.2.3.1 Выделение и амплификация бактериальной ДНК, подготовка ДНК библиотек.....	51
2.2.3.2 Секвенирование 16S рРНК и анализ последовательности.....	52
2.2.3.3 Анализ последовательности бактериальной ДНК.....	52
2.3 Статистический метод обработки и биоинформатический анализ полученных данных.....	53
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	56
3.1 Клиническая характеристика группы.....	56
3.2 Характеристика биохимических показателей у пациентов с болезнью Альцгеймера.....	62
3.3 Цитокиновый профиль у пациентов с болезнью Альцгеймера.....	64
3.4 Ключевые переменные, связанные с болезнью Альцгеймера.....	69
3.5 Состав микробиоценоза кишечника у пациентов с болезнью Альцгеймера.....	71
3.5.1 Анализ фекальной микробиоты.....	71
3.5.2 Корреляции между сообществом кишечной микробиоты и тяжестью заболевания.....	78
3.5.3 Метаболические изменения в бактериальных популяциях.....	79
3.6 Анализ взаимосвязи между кишечной микробиотой и лабораторными показателями.....	81
3.6.1 Корреляции между сообществом кишечной микробиоты и биохимическими показателями крови.....	81
3.6.2 Корреляции между цитокинами и кишечными бактериальными таксонами.....	83
3.7 Обсуждение результатов исследования.....	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	92
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	94
ПРИЛОЖЕНИЕ А – Акт внедрения.....	113
ПРИЛОЖЕНИЕ Б – Заявления о согласии	114

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Закон Республики Казахстан. О науке: принят 18 февраля 2011 года, №407-IV (с изменениями и дополнениями по состоянию на 01.07.2023 г.).

ГОСО РК 5.04.034-2011. Государственный общеобязательный стандарт образования Республики Казахстан. Послевузовское образование. Докторантура. Основные положения (изменения от 23 августа 2012 г. №1080).

ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.32-2001. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления (изменения от 2006 г.).

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления;

Инструкции по оформлению диссертации и автореферата. Издание третье, дополненное и исправленное: утв. приказом председателя ВАК МОН РК от 28 сентября 2004 года, №377-3 ж.

Положение о диссертационном совете НАО «МУК» от 02.11.2023 г. (версия 2).

Закон Республики Казахстан. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения: принят 4 декабря 2002 года, №361-III.

Закон Республики Казахстан. О биологической безопасности Республики Казахстан: принят 21 мая 2022 года, №122-VII (с изменениями и дополнениями по состоянию на 08.06.2024 г.)

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Деменция – синдром, который может быть вызван целым рядом заболеваний, постепенно разрушающих нервные клетки и повреждающих головной мозг, что обычно приводит к снижению когнитивной функции в большей степени, чем этого можно было бы ожидать в результате обычных процессов биологического старения.

Секвенирование 16S рРНК – это ДНК-метод исследования кишечной микробиоты человека, который даёт возможность получить информацию о полном микробиологическом разнообразии в кишечнике, определяя и пристеночную, и просветную микробиоту. Этот метод признан «золотым стандартом» анализа состава микробиоты кишечника.

Амилоидоз мозга – редкое системное заболевание, вызванное внеклеточным отложением β - амилоида β .

Микробиоценоз кишечника – микрoэкологическая система организма, которая сложилась в процессе филогенетического развития в пищеварительном канале человека.

Микробиота кишечника – микроорганизмы, которые живут в желудочно-кишечном тракте в симбиозе с носителем.

Микробиом кишечника – сообщество микроорганизмов, населяющих конкретную среду обитания, или совокупность генов микроорганизмов такого сообщества.

Мультиплексный анализ – тип медико-биологических аналитических методов, позволяющих одновременно измерять наличие многочисленных сложных молекул в одном биологическом образце.

Фекальная трансплантация – это процесс трансплантации кишечных бактерий и бактериофагов содержащихся в кале здорового человека или нескольких здоровых людей, реципиенту, страдающему тем или иным заболеванием, при котором может быть показан этот метод лечения.

Метагеномный анализ – метод, позволяющий определить видовое разнообразие исследуемого образца без необходимости выделения и культивирования микроорганизмов.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

БА	– болезнь Альцгеймера
β -42(A β 42) APP	– белок предшественник амилоида
EOAD	– ранняя форма болезни Альцгеймера
LOAD	– поздняя форма болезни Альцгеймера
PSEN1, 2	– пресенилин 1, 2
MMSE	– краткая шкала оценки психического статуса
APOE4	– ген, белок
BDNF	– мозговой нейротрофический фактор
ЧМТ	– черепно мозговая травма
ЛКН	– легкие когнитивные нарушения
АГ	– артериальная гипертензия
СД	– сахарный диабет
ГГНС	– гипоталамо- гипофизарно-надпочечниковая система
ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты
КЦЖК	– короткоцепочечные жирные кислоты
NMDA	– метил D- аспартат
ГЭБ	– гематоэнцефалический барьер
ПЭТ	– позитронно-эмиссионная томография
ГАМК	– гаммааминомасляная кислота
НФТ	– нейрофибриллярные клубки
ЛПС	– липополисахариды
АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
ЛПВП	– липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	– липопротеиды низкой плотности
CDT	– тест по рисованию часов
ИМТ	– индекс массы тела
ОТЕ	– операционные таксономические единицы
HFD	– диета с высоким содержанием жиров
TREM2	– (триггерный рецептор, экспрессируемый на микроглии/миелоидных клетках-2)
CONVR-APPPS1	– животная модель болезни Альцгеймера (трансгенные мыши, экспрессирующие человеческий ген APP и PS1)
3xTg-AD	– модель тройной трансгенной мыши БА является широко используемой, но уникальной моделью БА, демонстрирующая как амилоидную, так и тау-патологию, основные черты человеческого фенотипа БА
TLR2 (толл-подобный рецептор)	– мембранный белок, входящий в группу толл-подобных рецепторов, обеспечивающих функционирование врождённого иммунитета
Пептид <i>curli</i>	– амилоидоподобный пептид, продуцируемый патогенными бактериями
TMA	– (триметиламин) летучий третичный амин, продукт распада

	азотсодержащих органических веществ животного и растительного происхождения
EGF	– эпидермальный фактор роста
TMAO	– триметиламиноксид
IL-12P70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL1RA	– (антагонист рецептора интерлейкина 1)
MCP-1	– моноцитарный хемотаксический фактор 1
MIP-1 α (CCL3)	– воспалительный белок макрофагов 1 α
MIP-1 β , RANTES (CCL5)	– хемокин
EGF	– фактор роста эндотелия сосудов
TGF- α -FIT-3L	– трансформирующий фактор роста
GRO	– гемопоетический четырехспиральный цитокин
MDC	– белок регулятор роста
PDGF-AA	– хемокин макрофагального происхождения
sCD40L	– фактор роста тромбоцитов
TNF α	– поверхностный мембранный гликопротеид
G-CSF	– фактор некроза опухоли
IFN- γ	– гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
GM-CSF	– γ (интерферон)
IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9	– гранулоцитарно-макрофагальный эотаксин(хемокин)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Болезнь Альцгеймера (БА) – это прогрессирующее нейродегенеративное заболевание головного мозга, поражающее около 10% людей в возрасте 65 лет и 30% старше 80 лет. По данным ВОЗ среди 10 причин смертности в мире в 2019 г болезнь Альцгеймера заняла 7 строчку после ИБС, инсультов, ХОБЛ, инфекций нижних дыхательных путей, неонатальных патологических состояний и рака трахеи, бронхов и легких. По причинам смертности, среди лиц пожилого возраста старше 65 лет, нейродегенеративные заболевания занимают 6 место, а недееспособности первое место [1]. Согласно ежегодному отчету ADI (Alzheimer's Disease International) в 2020 г. возрастной деменцией страдали около 55 млн. человек по всему миру и эта цифра удваивается каждые 20 лет и достигнет 78 млн. в 2030 г. и 139 млн. в 2050 г. При этом более 60% случаев будет приходиться на страны со средним и низким доходом [2]. В Казахстане, также как и в других странах мира, на протяжении последних десятилетий происходит старение населения, где доля пожилых лиц старше 65 лет выросла с 6.6 до 8.2% человек. Учитывая, что численность населения в Казахстане в 2023 году составила 20 млн. человек и, основываясь на данных мировой статистики, можно предположить что около 200000 человек преклонного возраста могут страдать возрастной деменцией.

В последние десятилетия болезнь Альцгеймера становится предметом все более возрастающего внимания научного сообщества в связи с ее мультифакториальным характером и социально-экономическим бременем, которое она накладывает на общество. Сложность этой нейродегенеративной патологии, объединенная с ее растущей распространенностью, связанной с повсеместным старением населения Земли подчеркивает неотложную необходимость в более глубоком исследовании механизмов развития и факторов риска, что особенно актуально для развивающихся стран, включая Казахстан. Во Всемирном Докладе Болезни Альцгеймера говорится, что в Центральном-Азиатском регионе отмечается постоянный недостаток исследований в области деменции.

Одним из важных факторов, влияющих на здоровье человека и привлекающих все большее внимание ученых в последние два десятилетия, является кишечный микробиом. Недавние исследования убедительно свидетельствуют о том, что микробиом кишечника может влиять на функции мозга и способствовать развитию болезни Альцгеймера. Тем не менее, нет исследований, сравнивающих изменения микробиома кишечника, связанные с БА в различных популяциях людей, хотя существуют доказательства того, что изменения в микробиоме кишечника у пациентов с БА из разных стран не одинаковы. Эти различия могут быть связаны с такими фактами, как биогеография, этническая принадлежность, образ жизни и привычки питания. Существует также предположение, что развитие спорадической болезни Альцгеймера может быть обусловлено микробиом-ассоциированным периферическим воспалением. Следовательно, необходимы дополнительные

исследования, чтобы выявить взаимосвязь между изменениями микробиома человека, воспалением и образом жизни в разных этнических группах, а также их влияние на когнитивные функции и риск развития БА.

Получено достаточно данных о роли наследственных факторов в развитии БА не только при семейных, но и спорадических случаях заболевания. Однако для реализации генетической предрасположенности и запуска патологического процесса необходимо воздействие других внутренних и внешних факторов [3]. Значимыми факторами риска развития БА рассматриваются старение, женский пол, низкий уровень образования, гипоксия мозга при хронической ишемии в связи с артериальной гипертензией, дислипидемией, сахарным диабетом, повторные черепно-мозговые травмы, инфаркт миокарда, гипотиреоз, депрессия, воздействие электромагнитных полей, загрязнение воздуха, низкий уровень витамина B12 и фолатов в сыворотке крови [4-6]. На доклинической стадии или стадии умеренных когнитивных нарушений воздействие на модифицируемые факторы риска могло бы потенциально отсрочить начало необратимой гибели нейронов, приводящей к когнитивному снижению. Очевидно, что изучение социально-демографических и коморбидных факторов риска БА позволит разработать более эффективные стратегии первичной и вторичной профилактики этого заболевания [7]. В этом контексте акцент делается на тщательном изучении взаимодействия биохимических, иммунных и социально-демографических факторов, чтобы полноценно понять механизмы развития этого нейродегенеративного расстройства, а также разработать более эффективные стратегии первичной и вторичной профилактики и инновационных подходов к управлению над болезнью [7, р. 71-1-71-8]. Представления о значимости конкретных факторов риска развития БА в различных этнических популяциях и географических регионах мира пересматриваются ежегодно, и их дальнейшее изучение по-прежнему остается весьма актуальной научной и медицинской проблемой [8].

Исходя из вышесказанного, целью данного исследования явилась оценка биохимических факторов, цитокинового профиля, состояние микробиоценоза у пациентов с болезнью Альцгеймера.

Задачи исследования:

1. Исследовать биохимический профиль (холестерин, триглицериды, ЛПНП, ЛПВП, АЛТ, АСТ, глюкоза, инсулин, СРБ, общий билирубин) в крови у пациентов с болезнью Альцгеймера.
2. Исследовать цитокиновый профиль в крови у пациентов с болезнью Альцгеймера.
3. Исследовать состояние микробиоценоза кишечника у пациентов с болезнью Альцгеймера.
4. Оценить взаимосвязь тяжести клинических проявлений с изменениями микробиоценоза у пациентов с болезнью Альцгеймера.
5. Оценить взаимосвязь между изменениями микробиоценоза кишечника с биохимическими показателями и цитокиновым профилем у пациентов с болезнью Альцгеймера.

Научная новизна:

Впервые выявлено изменение функционального состояния печени, нарушение липидного обмена, нарушение метаболизма инсулина у пациентов с болезнью Альцгеймера в Казахстанской популяции (Астана; Алматы).

Впервые определена характеристика кишечного дисбиоза у пациентов с болезнью Альцгеймера в Казахстанской популяции (Астана; Алматы), который проявлялся значительными различиями в численности фекальных бактерий на уровне типа, класса, порядка и рода по сравнению с людьми пожилого возраста без когнитивных нарушений.

Впервые выявлено истощение противовоспалительного звена иммунитета, более выраженное у пациентов с болезнью Альцгеймера в Казахстанской популяции (Астана; Алматы), чем у людей пожилого возраста без когнитивных нарушений.

Впервые определена ассоциация между кишечным микробиомом с биохимическим профилем, цитокиновым профилем и степенью тяжести заболевания в Казахстанской популяции (Астана; Алматы).

Практическая значимость:

1. Полученные значимые различия таксонов в микробиоме кишечника у пациентов с БА, могут дополнить мировые базы данных о влиянии микробиома кишечника на риски возникновения БА применительно к казахстанской популяции и разработать в перспективе новые стратегии, нацеленные на манипулирование микробиомом для эффективной профилактики и управления болезнью.

2. Результаты биохимического исследования крови у пациентов с БА дают основание для рекомендации по контролю за липидным, углеводным обменом (даже пороговые значения) и состояние функции печени в среднем возрасте с целью снижения рисков заболеваемости возрастной деменцией, включая БА, в пожилом возрасте. Акт внедрения результатов научно-практической работы от 18.11.2024 г.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Биохимический профиль крови у пациентов с болезнью Альцгеймера характеризуется изменением показателей функционального состояния печени, нарушением липидного обмена, нарушением метаболизма инсулина.

2. У пациентов с БА происходит истощение противовоспалительного звена иммунитета, более выраженное чем у людей пожилого возраста без когнитивных нарушений.

3. У пациентов с БА фиксируется кишечный дисбиоз, проявляющийся значительными различиями в численности фекальных бактерий на уровне типа, класса, порядка и рода по сравнению с людьми пожилого возраста без когнитивных нарушений.

Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 3 печатные работы: 1 статья в издании, имеющая 91 перцентиль (Q1) по CiteScore в базе Scopus и 1 статья в издании с 93 перцентилем по CiteScore в базе Scopus и 1 статья с 74 перцентилем по CiteScore в базе Scopus. Основные результаты исследования и

положения диссертации доложены в выступлении на Республиканской конференции с международным участием «Менеджмент неврологических заболеваний, в том числе орфанных» (Астана, 2022 - 29-30 сентября).

Личный вклад диссертанта. Работа выполнена в соответствии с направлением развития науки в области «Науки о жизни и здоровье» утвержденным Высшей научно-технической комиссией при Правительстве Республики Казахстан. Диссертант самостоятельно проводила рекрутинг участников исследования, сбор материал, осуществляла клиническое обследование пациентов с болезнью Альцгеймера, анкетирование всех участников исследования по социально-демографическому опроснику, самостоятельно проводила выделение сыворотки крови, участвовала в проведении процедуры анализа цитокинов и хемокинов с использованием MILLIPLEX Map Human Cytokine/Chemokine Magnetic Beas Panel на технологии Luminex xMAP, заполнение электронных программ базы данных. Диссертант самостоятельно анализировала и обобщала полученные результаты исследования (Приложение А), проводила статистическую обработку данных (Приложение Б), осуществляла написание статей под руководством научного руководителя и консультантов, самостоятельно переводила статьи на английский язык. Автором материал диссертации просистематизирован, все разделы работы, соответственно, оформлены и задокументированы.

Объем структура и диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение, общих выводов, списка использованной литературы. Работа изложена на 112 страницах машинописного текста, включает 8 таблиц, 28 рисунков. Список использованной литературы содержит 287 наименований.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиология и факторы риска болезни Альцгеймера

1.1.1 Болезнь Альцгеймера: патогенез, клиника, лечение

БА характеризуется накоплением в верхнем мозге А β бляшек, что предшествует распространению тау, потере нейронов и, в конечном итоге, клиническим проявлениям через 20-30 лет [9]. А β представляет собой фрагмент 4 кДа белка-предшественника амилоида (APP), более крупной молекулы-предшественника, широко продуцируемой нейронами головного мозга, клетками сосудов и крови (включая тромбоциты) и, в меньшей степени, астроцитами. Два последующих протеолитических расщепления APP с помощью β -секретазы (β -APP-расщепляющий фермент-1 (BACE1)) в эктодоме и γ -секретазы во внутримембранных сайтах приводят к образованию А β [10].

В 1984 г. впервые сообщалось об А β и его аминокислотной последовательности как об основном компоненте менингovasкулярных полиморфных отложений у пациентов с синдромом Дауна; полная последовательность ядра паренхимальной бляшки А β оказалась идентичной периваскулярному компоненту, описанному ранее, за исключением того, что последний в основном простирается до 42-го остатка [9, p. 5481-5502]. Впоследствии ген APP был секвенирован, что подтвердило, что А β является побочным продуктом ферментативного процессинга APP. В конце концов, плотные агрегаты А β были описаны как основной компонент неокортикальных нейритных бляшек, характеризующих старение мозга и представляющих собой патологический признак БА наряду с тау-нейрофибриллярными клубками (НФК) [9, p. 5481-5502]. Нейропатологические исследования, подтвержденные *in vivo* недавними количественными нейровизуализирующими исследованиями, указывают на пространственно-временную эволюцию накопления А β в головном мозге, которая первоначально происходит в областях головного мозга с популяциями нейронов с высокими уровнями метаболической биоэнергетической активности (например, ассоциативные коры головного мозга) и распространяется от неокортекса к распределяют кору головного мозга к стволу мозга, в конечном итоге достигая мозжечка [11]. В течение 1990-х и начала 2000-х годов механистические исследования, связывающие аутосомно-доминантные гены БА, исследование нескольких генетических факторов риска, связывающих позднее начало БА с накоплением А β , и продольные исследования на основе биомаркеров, проведенные у лиц из группы риска привели к построению биолого-клинической конструкции БА, включая доказательства того, что патофизиология А β возникает за десятилетия до появления клинических симптомов [12, 13]. Кроме того, накопление А β в головном мозге, по-видимому, предшествует другим патомеханическим изменениям биологического континуума БА, включая распространение нейрофибриллярных клубков и участие в гибели нейронов и синапсов. Временная и пространственная эволюция этих патофизиологических изменений

лежит в основе когнитивного и функционального снижения БА на протяжении всего клинического континуума, от доклинической до продромальной стадии и стадии деменции.

Экспериментальные патомеханические исследования и исследования, подтверждающие концепцию, указывают на дисбаланс между продукцией А β нейронами и внеклеточным клиренсом А β как предшествующее событие дисгомеостаза А β , связанное с неправильным сворачиванием белка, агрегацией и начинающимся внеклеточным накоплением в бляшках [14]. В то время как при БА с ранним началом такой дисбаланс обусловлен главным образом генетически обусловленным нарушением регуляции амилоидогенного пути с последующим перепроизводством А β , в случаях БА с поздним началом происходит недостаточность сетей протеостаза – механизмов контроля качества, от синтеза белка с деградацией белка - при недостаточном церебральном клиренсе А β представляет собой ключевое событие в агрегации А β [15]. Такие эффекты просачивания вниз включают в себя инициирующий фактор накопления А β в мозге как раннее и центральное патофизиологическое изменение в биологическом континууме БА [16].

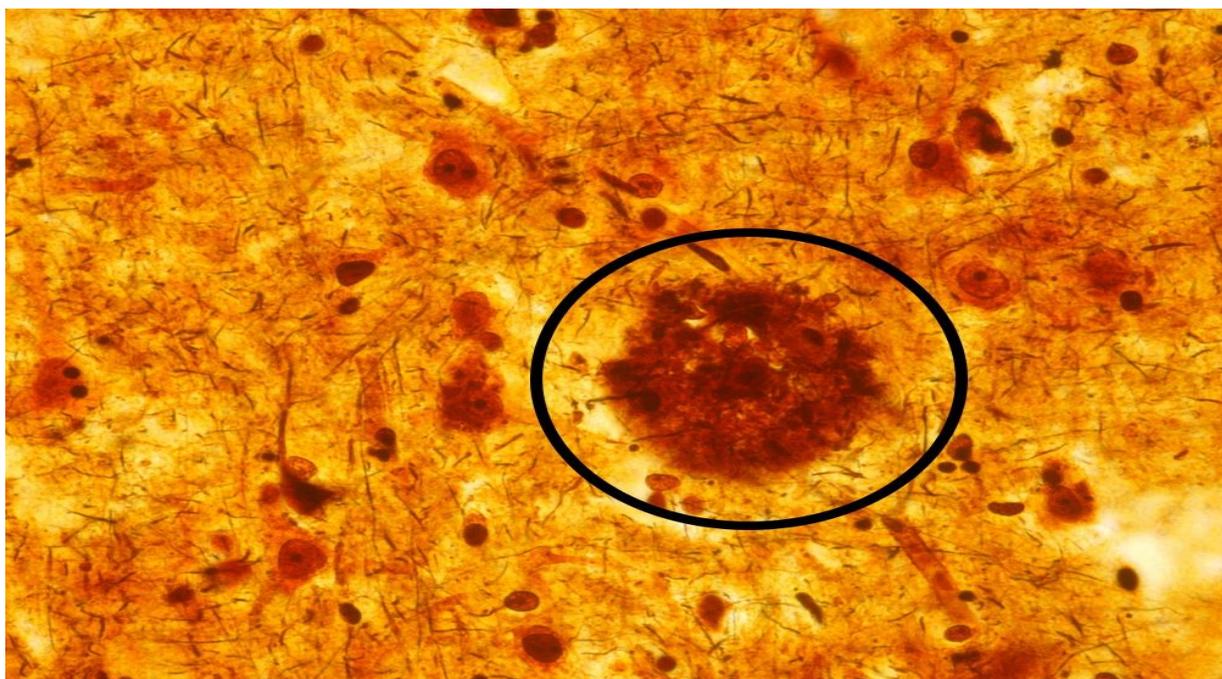


Рисунок 1 - Микроскопическое изображение амилоидной бляшки в ткани человеческого мозга

Примечание – Составлено по источнику [17]

В соответствии с рисунком 1, показано микроскопическое изображение амилоидной бляшки в ткани человеческого мозга.

На рисунке 2, показано микроскопическое изображение здорового нейрона и нейрона с нейрофибрилярными тау клубками.

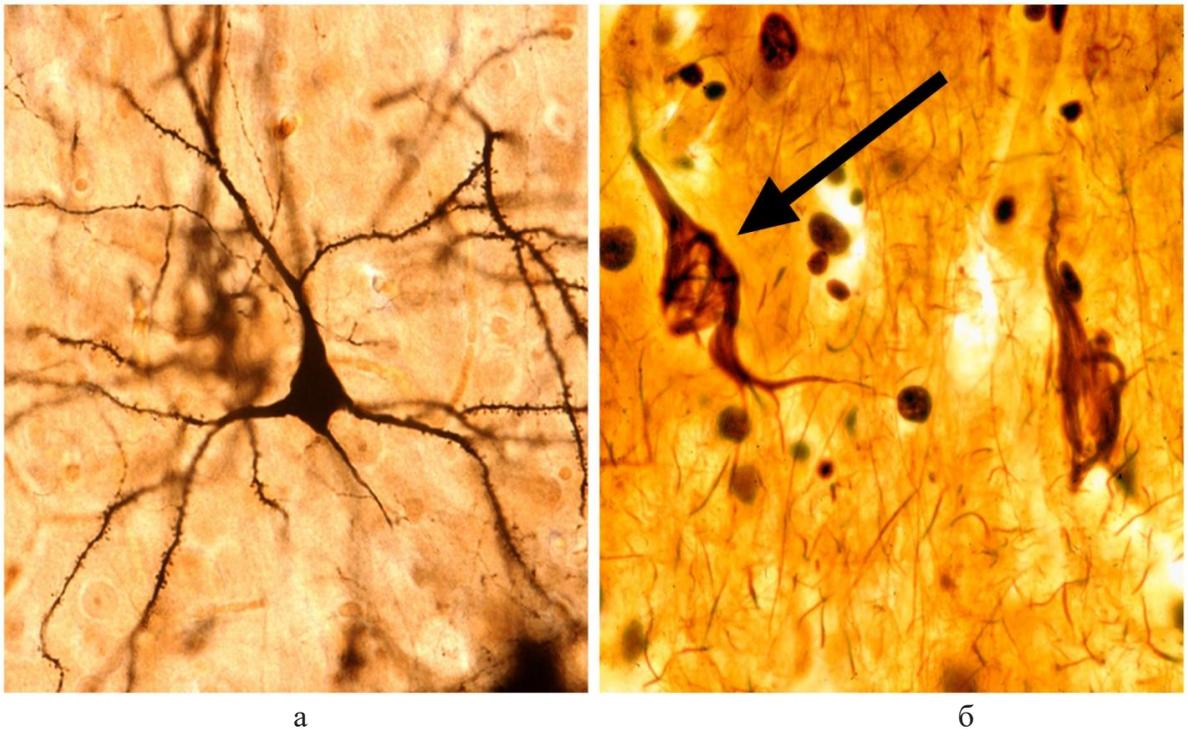


Рисунок 2 - Микроскопическое изображение здорового нейрона (слева) и нейрона с нейрофибрилярными тау клубками (справа)

Примечание – Составлено по источнику [17]

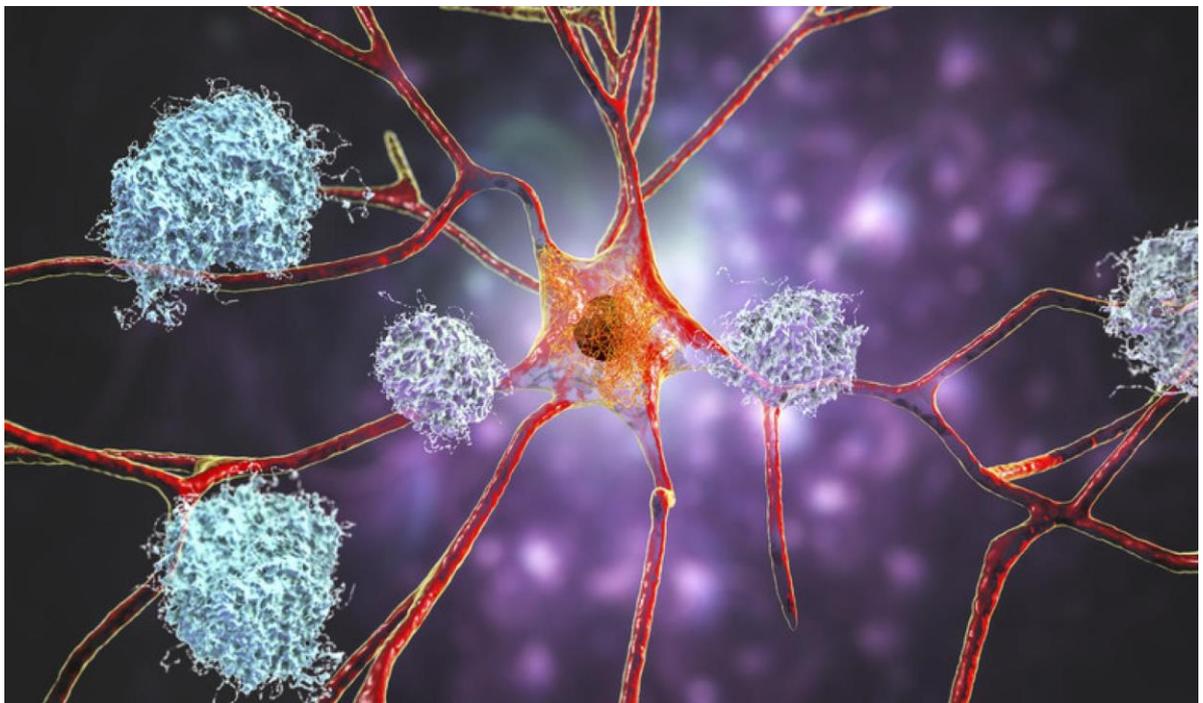


Рисунок 3 - Тау клубки (оранжевые) внутри клетки мозга (нейрон) и амилоидные бляшки (голубые) в окружающей ткани

Примечание – Составлено по источнику [18]

В соответствии с рисунком 3, показаны Тау клубки внутри клетки мозга (нейрон) и амилоидные бляшки в окружающей ткани.

БА с ранним началом

Крупномасштабный генетический анализ, проведенный в наборах данных информативных моногенных родословных, выявил высокопроникающие мутации в трех генах - гене APP и генах пресенилина 1 и 2 (PSEN1 и PSEN2). Эти мутации передаются по аутосомно-доминантному наследованию (т.е. аутосомно-доминантная болезнь Альцгеймера или АДБА). В мышинных моделях АДБА каждая моногенная мутация вызывает дисгомеостаз Аβ с неправильным сворачиванием белка, агрегацией и накоплением в паренхиматозных бляшках Аβ головного мозга [19]. Такая линейная патомеханическая модель (т.е. «одна мутация – один неправильно свернутый белок») привела к концептуализации «амилоидного каскада» [19, p. 570-580]. У людей генетическая болезнь Альцгеймера с ранним началом составляет около 1% всех случаев БА, и большинство генетических форм вызвано мутациями в генах APP, PSEN1 и PSEN2, при этом в этих генах зарегистрировано более 300 различных аутосомно-доминантных мутаций [20, 21]. Локус гена APP находится на хромосоме 21. Несколько исследований генетического сцепления и данные наблюдений показывают, что у людей с синдромом Дауна, несущих трипликацию гена APP, развиваются когнитивные нарушения, связанные с биологическими признаками БА [22]. Более того, было обнаружено, что 25 геномных дупликаций, включающих APP, ко-сегрегируют с БА в семьях с аутосомно-доминантной передачей заболевания [23, 24]. Большинство патогенных мутаций в гене APP группируются вокруг протеолитических сайтов β- и γ-секретаз с последующим увеличением сродства к субстрату и либо общим увеличением общего пула Аβ, либо сдвигами в соотношениях пептидов Аβ. Последний характеризуется относительным повышением уровня Аβ₁₋₄₂ по сравнению с уровнем Аβ₁₋₄₀ и более коротких видов [25, 26]. Предполагается, что такой дисбаланс способствует самоагрегации белков [27].

Потенциальная патогенная роль гена APP у человека подтверждается существованием редкого защитного варианта – APP A673T или (A2T) – рядом с сайтом β-секретазы APP, который снижает как расщепление APP, так и продукцию амилоидогенных Аβ-пептидов. Редкий вариант A673T в пять раз чаще встречается у пожилых исландцев без деменции, чем у людей с болезнью Альцгеймера [27, p. 1163-1171]. Примечательно, что другой новый вариант этого гена – A673V – связан с болезнью Альцгеймера, когда человек гомозиготен по этому гену, тогда как гетерозиготное состояние не затрагивается, что соответствует модели наследования рецессивного менделевского признака. Противоположные эффекты вариантов APP A673V и APP A673T на амилоидогенез указывают на отчетливый аутосомно-рецессивный тип наследования [28]. PSEN1 отвечает за большинство известных мутаций, связанных с болезнью Альцгеймера, с аутосомно-доминантной передачей. Было обнаружено более 200 мутаций с участием этого комплекса [29]. Сообщалось о мутациях PSEN2 в связи с другими заболеваниями, включая

лобно-височную деменцию (ЛВД), деменцию с тельцами Леви (ДТЛ), рак молочной железы и дилатационную кардиомиопатию [30].

БА с поздним началом

В настоящее время не известно никаких причинных (аутосомно-доминантных или рецессивных) генетических мутаций, связанных с БА с поздним началом [31]. Предполагается, что БА с поздним началом является многофакторным заболеванием со сложной генетической основой. Несколько критических генетических факторов риска предрасположенности к БА были обнаружены с помощью крупномасштабных полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), при этом более 50 генов/локусов восприимчивости связаны с риском БА с поздним началом [31, p. 1070-1076]. Несколько генов, связанных с БА с поздним началом, играют роль в регуляции путей воспалительного и иммунного ответа, эндоцитоза и клеточного транспорта, транспорта холестерина и липидного метаболизма, посттрансляционной модификации, включая убиквитинирование, которое является важнейшим механизмом клиренса клеточных белков [31, p. 1070-1076].

Расщепление APP и образование A β

Три основные протеазы – α -, β - и γ -секретазы – участвуют в процессинге APP посредством амилоидогенного пути, способствующего выработке A β посредством последовательного расщепления β - и γ -секретазами, и неамилоидогенного пути в APP расщепляется посередине, либо образуя растворимый APP α непосредственно α -секретазой, либо образуя более короткие виды A β , такие как A β 1-15 и A β 1-16, путем последовательного расщепления β -секретазой и α -секретазой. Альтернативно, APP может проникать в лизосомальный путь и подвергаться протеолитической деградации [32].

Пространственно-временная взаимосвязь между путем A β и патофизиологией тау при БА, как на молекулярном, так и на макроуровне, имеет решающее значение для понимания патогенеза и патофизиологического прогрессирования БА и в последнее время набирает обороты благодаря подтверждению нескольких биомаркеров, отображающих различные биологические уровни. Наиболее принятая в настоящее время модель указывает на то, что патофизиология A β может быть вышестоящим патофизиологическим событием при БА и может функционировать как триггер/стимулятор последующих молекулярных путей, включая неправильное сворачивание тау, тау-опосредованную токсичность, накопление в клубках и распространение тау, что приводит к кортикальному поражению нейродегенерации [33-35]. Генетические исследования подтверждают наблюдения на основе биомаркеров и экспериментальные исследования, которые указывают на временную синергию A β -тау, при которой существует патофизиологическая последовательность между агрегацией A β и тау-опосредованной токсичностью [35, p. 3240-3248].

Пространственно-временные взаимоотношения между A β и глиальными клетками, которые являются ключевыми организаторами нейровоспаления, представляют собой быстро расширяющуюся область исследований,

призванную определить, может ли нейровоспаление запускать и поддерживать начинающийся дисгомеостаз Аβ, или компенсировать его, или осуществлять и то, и другое в зависимости от стадии. На сегодняшний день большинство исследований подтверждают представление о том, что нейровоспаление является ключевым патогенным событием в этиологии БА. Исследование нейровоспалительных механизмов на людях по-прежнему ограничено из-за ранней стадии разработки или отсутствия клинической проверки соответствующих биомаркеров. Виды Аβ могут взаимодействовать с микроглиальными и астроцитарными рецепторами распознавания образов, которые инициируют врожденный иммунитет, при этом устойчивые изменения микроокружения – такие как накопление Аβ в мозгу – могут вызвать «прайминг» микроглии [36]. Прайминг делает микроглию восприимчивой к вторичным факторам, стимулирующим воспаление, которые затем могут усиливать воспалительные реакции [36, р. 219-226]. В мозге присутствуют две основные фенотипические категории клеток микроглии; отдыхает (или покоится) и активируется. Активированная микроглия является типичным патофизиологическим признаком БА и других нейродегенеративных заболеваний [37-39]. Экспериментальные модели БА демонстрируют, что микроглия окружает бляшки и фибриллы, вероятно, создавая физический барьер, который может предотвратить их распространение и токсичность [40]. Микроглия может способствовать клиренсу Аβ, а также ограничению роста и накопления бляшек [41]. Более того, нарушение регуляции активности микроглии, в том числе дистрофической микроглии, может быть триггером и усугубляющим фактором образования aberrantных белковых агрегатов в головном мозге [41, р. 106-117]. В мышинной модели БА наблюдается переход от состояния покоя к активированному состоянию микроглии, что может быть следствием физиологического стресса или стимулов активации, запускаемых Аβ [41, р. 106-117]. Аллель аполипопротеина Е (APOE) ε4 (локус на хромосоме 19q13.2) является первым и наиболее значимым идентифицированным геном риска БА с поздним началом [42]. Также сообщалось о значительном вредном влиянии аллели ε4 APOE на патофизиологию БА с ранним началом [42, р. 20-35]. Возрастные траектории памяти у носителей APOE ε4 могут отличаться от таковых у неносителей в возрасте до 60 лет, несмотря на продолжающийся нормальный клинический статус, поскольку наличие APOE ε4 коррелирует с более ранним снижением [42, р. 20-35]. Гомозиготность по аллелю ε4 APOE увеличивает риск развития БА с поздним началом в 3–15 раз дозозависимым образом (54). APOE имеет три основных аллельных варианта: APOE ε2, APOE ε3 и APOE ε4, причем аллель ε3 является наиболее распространенным (77%), а аллель ε2 наименее распространенным (8%) [42, р. 20-35]. Белок ApoE человека представляет собой гликопротеин массой 34 кДа, состоящий из 299 аминокислот. В центральной нервной системе (ЦНС) ApoE обильно экспрессируется в астроцитах, микроглии, клетках сосудистой стенки и клетках сосудистого сплетения и, в меньшей степени, в стрессированных нейронах [43]. Изоформы ApoE по-разному модулируют множество внутриклеточных

сигнальных путей головного мозга, включая транспорт липидов, синаптический гомеостаз, метаболизм глюкозы и цереброваскулярную функцию [42, p. 20-35].

Лечение

Несмотря на растущую популяцию пациентов с БА, в настоящее время одобрено только пять вариантов лечения когнитивных симптомов БА, самый последний из которых (мемантин) был одобрен более десяти лет назад. Четыре из пяти стандартных методов лечения также лицензированы в Европейском Союзе; к ним относятся три ингибитора холинэстеразы (донепезил, галантамин и ривастигмин) и один антагонист рецепторов N-метил-D-аспартата (мемантин) [43, p. 37]. В 2014 году пятый вариант лечения, состоящий из комбинации фиксированных доз донепезила и мемантина, был одобрен для лечения пациентов с умеренной и тяжелой БА-деменцией, которые проходят стабильную терапию донепезилом. Большинство терапевтических средств, разрабатывавшихся за последние 15 лет, потерпели неудачу; БА является одной из наименее обеспеченных терапевтических областей для медикаментозного лечения. Почти все исследования, проведенные на сегодняшний день, представляли собой исследования монотерапии, в которых сравнивали активное вещество с плацебо с использованием или без использования базовых средств стандартной терапии, таких как ингибиторы холинэстеразы или мемантин.

Многие терапевтические стратегии изучались на протяжении нескольких десятилетий; однако радикального лечения до сих пор нет, и приоритетом остается профилактика. В этом обзоре мы представляем обновленную информацию о клинической и физиологической фазе спектра БА, модифицируемых и немодифицируемых факторах риска для лечения БА с акцентом на стратегии профилактики, затем модели исследования, используемые при БА, с последующим обсуждением ограничений лечения. Методы профилактики могут значительно замедлить развитие болезни Альцгеймера и в настоящее время являются лучшей возможной стратегией на поздних стадиях заболевания. Действительно, современные медикаментозные методы лечения оказывают только симптоматическое действие, а методы лечения, модифицирующие заболевание, еще не доступны.

1.1.2 Современные теории болезни Альцгеймера: амилоидная, тау-теория, холинергическая теория

1.1.2.1 Холинергическая теория. Изменение нейромедиаторной системы

Холинергическая гипотеза является старейшей теорией, лежащей в основе патогенеза БА, и основывается на наблюдении, что активность ацетилхолин-трансферазы (АХТ) значительно снижается в синапсах миндалевидного тела, гиппокампа и коры головного мозга при БА, что приводит к соответствующему холинергическая недостаточность и ухудшение памяти, внимания и обучения [44]. Проекция пресинаптических холинергических нейронов в кору головного мозга в базальном ядре Мейнерта, по-видимому, специфически подвергается глубокой дегенерации на поздней

стадии БА [45]. Это приводит к последующей потере никотиновых рецепторов в коре головного мозга и мускариновых рецепторов M2, оба из которых являются преимущественно пресинаптическими [45, p. 1917-1932]. Уменьшение количества рецепторов M1 в зубчатой извилине и пирамидных нейронах в слоях III и V парагиппокампальной коры также было продемонстрировано у пациентов с БА [46]. Этот объем исследований привел к созданию единственного на сегодняшний день клинически значимого метода лечения БА.

1.1.2.2 Амилоидная теория

Внеклеточные бляшки, наблюдаемые при БА, в основном состоят из белка A β , который создается путем процессинга родительского белка-предшественника амилоида (APP) [47]. На пикомолярных уровнях APP и A β участвуют в нормальном функционировании нейронов и модуляции синаптической пластичности. Положение гена APP на хромосоме 21 вызвало интерес к связи пресенильного снижения когнитивных функций и патологии амилоидных бляшек, наблюдаемой при трисомии 21, [48], однако последующая работа продемонстрировала ограничения применения патофизиологии этой формы когнитивного снижения к более поздней, спорадической форме болезни Альцгеймера. Это направление исследований было важным, поскольку оно привело к открытию аутосомно-доминантной формы болезни Альцгеймера с ранним началом, при которой мутация гена APP приводит к нейродегенерации [49]. Хотя работа в этой области явно отличается от более распространенной спорадической болезни Альцгеймера, она продемонстрировала нейротоксичность A β и способствовала формулировке гипотезы амилоидного каскада. Эта теория постулирует, что токсические бляшки являются самой ранней патологией БА [50]. Аберрантная форма амилоидных бляшек индуцирует фосфорилирование тау-белка вследствие дисбаланса клеточной передачи сигналов, последний из которых затем распространяется на локальные нейроны посредством транспорта в микротрубочках. Соответствующее накопление гиперфосфорилированного тау-белка приводит к гибели клеток и постепенной когнитивной дисфункции [51].

1.1.2.3 Нейроваскулярная теория

Нейроваскулярная гипотеза исследует сосудистую дисрегуляцию, возникающую у пациентов с БА. Уже почти три десятилетия известно, что при БА повреждается микроциркуляция головного мозга, что приводит к региональным и ламинарным паттернам повреждений, которые следуют за деградацией нейронов [52]. Последующие исследования показали, что белок A β может взаимодействовать с эндотелиальными клетками сосудов, производя избыточное количество супероксидных радикалов [53]. Эти супероксидные радикалы затем вызывают целый ряд дегенеративных изменений и ингибируют выработку оксида азота, способствуя усилению вазоконстрикции и снижению местного кровоснабжения, усугубляя дальнейшие патологии [54-57].

1.1.2.4 Теория митохондриального каскада

Идея, лежащая в основе гипотезы митохондриального каскада, была впервые выдвинута в попытке объяснить общий патофизиологический механизм, лежащий в основе более распространенной спорадической формы БА [58]. Он постулирует, что базальная скорость производства активных форм кислорода (АФК) у человека генетически детерминирована и определяет скорость, с которой происходит приобретенное повреждение митохондрий [59]. В конечном итоге это приводит к трем специально определенным событиям, называемым реакцией на удаление, реакцией на сброс и реакцией на замену. На клеточном уровне это соответствует увеличению генерации А β из-за увеличения АФК, пораженных клеток, подвергающихся запрограммированной клеточной гибели, и безуспешных попыток нейрональных предшественников повторно войти в клеточный цикл, что приводит к тау-фосфорилированию и анеуплоидии [59, p. 915-931; 60, 61].

1.1.2.5 Теория тау белков

Высокофосфорилированные тау-белки (p-тау) составляют большую часть нейрофибриллярных клубков (НФК), наблюдаемых при БА [62]. Эти белки обычно связывают и помогают стабилизировать микротрубочки в аксонах [63]. Функция этих белков сильно зависит от состояния фосфорилирования [64]. Гиперфосфорилирование может обнажить домен, связывающий микротрубочки, который обеспечивает самоагрегацию и олигомеризацию, что в конечном итоге приводит к образованию парных спиральных филаментов, потере аксонального транспорта и преобразованию в НФК с дальнейшим клеточным разрушением. В настоящее время считается, что промежуточный тау-олигомер более важен для прогрессирования заболевания, чем образующиеся в результате НФК [65]. Хотя процесс олигомеризации и образование НФК первоначально рассматривался как последующий эффект накопления амилоидных бляшек, уровни p-tau более тесно коррелируют с тяжестью симптомов и потерей нейронов, чем уровни только А β бляшек [66, 67]. В настоящее время предполагается, что патологическое накопление p-tau играет более важную роль в прогрессировании заболевания с прямым, прионоподобным распространением и дегенерацией нейронов от энторинальной коры до перфорантного пути, который связывает кора головного мозга и гиппокам [68, 69]. По этим причинам таргетная терапия p-tau в последнее десятилетие стала перспективным направлением.

1.1.3 Влияние социально-демографических и клинических показателей на развитие заболевания

1.1.3.1 Социально-демографические факторы (пол, место рождения и место проживания, образование, курение, алкоголь)

Болезнь Альцгеймера – сложное многофакторное заболевание, которое определяется взаимодействием генетической предрасположенности и факторов окружающей среды в течение всей жизни. Треть случаев заболевания, связаны

с модифицируемыми факторами риска, которые могут модулировать риск развития болезни. Известно, что заболевание начинается на десятилетия раньше появления первых клинических симптомов, поэтому вмешательства, направленные на несколько факторов риска у пожилых людей без деменции, даже у населения в среднем возрасте, способно предотвратить или отсрочить начало болезни [70].

Эпидемиологические исследования выявили несколько модифицируемых и защитных факторов риска развития болезни Альцгеймера, которые разделены на категории.

Женщины составляют две трети всех случаев БА, также имеют больший риск развития деменции в течение всей жизни по сравнению с мужчинами [71]. Риск развития БА у женщин выше не только из-за продолжительности жизни, но и внезапного снижения уровня эстрогена в постменопаузе, и других причин, включая, уровень образования и состояния психического здоровья [72]. Снижение уровня эстрогена, наблюдаемое у женщин в постменопаузе, было связано с повышенным содержанием триглицеридов и уровня холестерина ЛПВП, оба из которых были связаны со снижением когнитивных функций [73]. Иными словами, повышенная распространенность и риск развития БА среди женщин может быть частично объяснена резким снижением выработки эстрогена, которое сопровождает постменопаузальное состояние. Дефицит эстрогена, не только снижает концентрацию противовоспалительных ДЦ-ПНЖК и холестерина ЛПВП, но также повышает уровень триглицеридов, увеличивая секрецию ЛПОНП, липидного переносчика, который, как известно, вызывает нейровоспаление [74].

Систематические обзоры показывают, что проживание в сельской местности в начале жизни повышает риск деменции в пожилом возрасте, что возможно обусловлено более низким уровнем образования и соответственно снижением уровня когнитивного резерва [75].

Непрерывное образование взрослых может положительно влиять на речевую обработку и интеллектуальные функции, а долгосрочное образование влиять на объем мозга за счет увеличения площади и толщины коры головного мозга [76]. Менделевские рандомизированные исследование подтвердили причинно-следственную связь между образованием и снижением риска болезни Альцгеймера, а также отсроченным началом заболевания, опосредованное интеллектом [77].

Участие в активной когнитивной деятельности, вероятнее всего, снижает риск болезни Альцгеймера на 46% [78]. За счет улучшения нейронных связей между гиппокампом и лобной корой. Билингвы имеют более сильные исполнительные и зрительно-пространственные функции чем монолингвы. Высокий уровень образования способно отсрочить болезнь за счет когнитивного резерва и объема мозга [79]. Социальная активность может тренировать память и речь, увеличивая когнитивный резерв [80].

Согласно исследованию Хисаяма, активное регулярное занятие физическими упражнениями снижает риск БА вдвое [81]. Увеличение сердечно-легочного индекса, улучшение мозговой перфузии, имеют

положительное влияние на исполнительные функции и беглость речи [82], возможно, за счет сохранения объема гиппокампа и здоровье нейронов [83].

Курение увеличивает риск развития БА по данным метаанализа, включающем 37 продольных исследований [84]. Окислительный стресс может способствовать накоплению Аβ и тау белка [84, р. e0118333]. Курение может увеличить риск болезни Альцгеймера посредством нескольких механизмов, в основном связанных с окислительным стрессом и воспалительными реакциями [85]. А также механизмами, лежащим в основе связи между курением и БА, являются сосудистые заболевания [86]. Курение способствует развитию различных субклинических и клинических сосудистых заболеваний, включая атеросклероз и цереброваскулярные заболевания что, в свою очередь, может привести к повышенному риску развития БА [86, р. 292-301]. Однако, табачный дым также содержит сотни химических веществ, которые, как известно, являются нейротоксинами и могут способствовать риску болезни Альцгеймера из-за окислительного стресса или воспалительных процессов [87]. Рейтц и др. сообщили, что у активных курильщиков риск БА возрастает с увеличением количества пачко-лет: больше 20 или меньше 20 (ОР 1,82;95%ДИ 1,26-2,57). Что касается бывшего курения, то Launer и др., наблюдали больший риск у мужчин, нежели у женщин (ОР 1,08;95%ДИ 0,73-1,61). Примечательно, что большее количество пачка-лет было связано с повышенной смертностью как в основной так и в контрольной группе, а начало БА происходило в значительно более молодом возрасте у бывших, и активных курильщиков по сравнению с никогда не курившими. Активные курильщики молодого и среднего возраста, по сравнению с никогда не курившими, демонстрировали худшие показатели во многих нейрокогнитивных областях, преимущественно в показателях исполнительных функций, скорости обработки информации, а также обучения и памяти. У них наблюдались аномалии региональной морфологии коры, гиппокампа и подкорки; микроструктурная целостность белого вещества и корковая перфузия. Нейробиологические нарушения у взрослого молодого, включали атрофию и дефицит метаболизма глюкозы при ЛКН и ранней стадии БА. Прогрессирующая региональная атрофия и снижение нейрокогнитивных способностей, наблюдаемые у пожилых курильщиков, также представляют собой факторы риска перехода от ЛКН к БА [88].

Средиземноморская диета, диета богатая рыбой, моно, полиненасыщенными жирными кислотами были обратно связаны с риском БА [89]. Также было показано, что употребление ПНЖК с пищей улучшает когнитивные функции, память и развитие мозга с самых ранних этапов жизни до взрослой жизни [90]. Знание о модифицируемых рисках болезни и факторах защиты, дает возможность применить профилактические меры задолго до начала болезни, тем самым отсрочить или предупредить прогрессирование заболевания.

1.1.3.2 Сопутствующие заболевания

Основываясь на всестороннем систематическом обзоре данных, связанных с факторами риска снижения когнитивных функций и БА,

Национальный институт здравоохранения США выделил сахарный диабет, курение, депрессию, отсутствие умственной активности, отсутствие физической активности и неправильное питание как связанные с повышенным риском снижения когнитивных функций, БА или и то и другой [91]. В результате проведенных 24 продольных исследований было доказано высокий риск развития БА среди диабетиков [92]. Несмотря на то, что сердечно-сосудистые заболевания и СД считаются факторами риска БА нужно отметить, что некоторые исследования предполагают, что диабет может повышать риска цереброваскулярной патологии, но не БА [93].

Влияние повышенного артериального давления на риск БА сложна и связана с возрастом. Имеется не мало данных, свидетельствующих, что гипертония в среднем, а не в позднем возрасте связана с 50% повышенным риском БА и деменции в более позднем возрасте [94]. Гипертензия может быть защитной реакцией на гипоперфузию головного мозга, которая проявляется за 10 лет до начала БА [95]. Гиперхолестеринемия увеличивает риск БА, повышая проницаемость ГЭБ, увеличивая отложение β амилоида, вызывая нейровоспаление усугубляет патологию заболевания [96]. При этом ЛПНП был связан с высоким риском БА [97], ЛПВП, вероятно, играл роль защитного фактора при БА (158), а триглицериды вовсе не имели какой-либо связи с БА [98].

Около 59% повышенный риск развития БА среди людей перенесших инсульт задокументирован в метаанализе, включающем шесть исследований [99].

Последовательные данные свидетельствуют о повышенном риске БА среди лиц среднего возраста с избыточным весом или ожирением, в то время как для пожилого возраста это является защитным фактором [100, 101].

Черепно-мозговая травма представляет серьезную проблему. Помимо изнурительных острых последствий, тяжелая ЧМТ и особенно повторная легкая ЧМТ [102] могут инициировать долгосрочные процессы нейродегенерации, ведущие к патологическим проявлениям, имеющим сходство с болезнью Альцгеймера [103]. С тех пор большое количество эпидемиологических исследований показало, что наличие в анамнезе предшествующей ЧМТ связано с развитием многочисленных типов деменции в более позднем возрасте [104]. Другие недавние исследования показали, что ЧМТ связана не с БА, а с другими типами нейродегенерации, такими как накопление телец Леви и паркинсонизм [105, 106], подчеркивая необходимость лучшего понимания патологических механизмы, активируемые после ЧМТ, и их связь с нейродегенерацией. Лица, перенесшие черепно-мозговую травму имели повышенный риск развития БА, демонстрируют датские [107] и шведские исследования [108].

1.1.3.2.1 Депрессия

Депрессия является значительным фактором риска БА [109]. Однако депрессия и БА имеют общие механизмы развития такие как воспаление и нейродегенерация и имеют общие симптомы на продромальной стадии [110], таким образом, депрессия может выступить как симптом заболевания.

Хронический стресс увеличивает риск БА [111]. Длительные и частые стрессовые события в жизни могут привести к депрессии. Пожилые люди, склонные к стрессу, более склонны к деменции. Нарушения стресса и системы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) были продемонстрированы как при депрессии, так и при БА, с повышением уровня кортизола. Дисфункция ГГНС возникает на ранних стадиях БА. Высокие базальные уровни кортизола связаны с более быстрым снижением когнитивных функций у пациентов с БА [112]. Высокие уровни ГКС играют центральную роль как при депрессии так и при БА. ГКС активируя глюкокортикоидные рецепторы, вызывают гибель нейронов гиппокампа, повышают уязвимость нейронов к токсинам таким как активные формы кислорода, экситоксины и β -амилоид [112, p. 43-1-43-10]. Окислительный стресс и воспаление, в результате хронического стресса усугубляют продукцию амилоида [113].

Различные исследования показывают, что депрессивное расстройство связано с повышенным риском развития когнитивной дисфункции, и в конечном итоге к деменции, в частности БА. Систематический метаанализ Ownby др., ясно показывают, что депрессия рассматривается как фактор риска БА [114]. Наконец, депрессия может возникать у 30-40% пациентов с БА и влияет на клиническое развитие болезни. У пациентов с БА и депрессией нейрофибриллярные клубки и внеклеточные бляшки более выражены в гиппокампе, чем у пациентов без депрессии [115]. Некоторые исследования показали, что депрессия может быть как продромальным симптомом деменции, так и фактором риска. Другие исследования показали, что симптомы депрессии скорее совпадают с началом болезни Альцгеймера или следуют за ним, чем предшествуют ему [116].

Таким образом, поскольку распространенность депрессии на протяжении всей жизни выше у женщин, диагноз депрессии может иметь большее общее влияние на риск деменции при БА среди женщин.

1.2 Роль биохимических показателей крови в патогенезе болезни Альцгеймера

1.2.1 Ферменты печени

Известно, что БА представляет многофакторное заболевание со сложным механизмом развития, где принимают участие метаболическая, иммунная, эндокринная, нервная системы. В литературе приведено, много данных об отражении данных изменений в биохимическом составе крови у пациентов БА.

Предположено, что гипометаболизм печени, определяемый низкими уровнями АЛТ и АСТ, играет роль в патогенезе деменции [117]. Было показано, что уровни А β в головном мозге отражают баланс между продукцией А β и его клиренсом и что гомеостаз А β затрагивает несколько систем, включая печень. Отчеты, основанные на мышинных моделях документируют поглощение, метаболизм и экскрецию больших доз А β печенью, а работа *in vitro* предполагает, что снижение печеночной деградациии А β может влиять на отложение А β в головном мозге [118]. Измененные ферменты печени приводят

к нарушениям метаболитов, связанных с печенью, включая аминокислоты с разветвленной цепью, эфиры – фосфатидилхолины и липиды, которые изменяются при БА, и могут играть роль в патофизиологических характеристиках заболевания. Нарушение энергетического метаболизма является одним из процессов, которые могут объяснить наблюдаемые более низкие уровни АЛТ и повышенное соотношение ферментов у лиц с БА и нарушением когнитивных функций. АЛТ, АСТ когнитивных функций. Снижение уровня АЛТ, и повышение значений отношения АСТ к АЛТ наблюдались у пациентов с БА и были связаны используются в общей клинической практике для измерения повреждения печени и являются факторами, связанными с сердечно-сосудистыми и метаболическими заболеваниями, известными факторами риска БА и снижения с более низкими показателями памяти и исполнительных функций [118, р. 780174]. Повышение соотношения АСТ/АЛТ связано с высоким риском когнитивных нарушений. Было обнаружено, что соотношения АСТ/АЛТ было связано с БА ($p=0,014$, ОШ= 1, 84895% ДИ: 1,133-3,012). Отношение АСТ/АЛТ отрицательно коррелировало с объемом правого гиппокампа ($r= -0,148$, $p=0,043$). Повышение соотношения АСТ/АЛТ связано со снижением когнитивных функций, влияя на объем гиппокампа [119]. В другом исследовании обнаружено, что уровни АЛТ и АСТ имели значительную положительную связь с когнитивными способностями и были значительно снижены у пациентов с БА [120]. Полученные данные могут служить маркером дисфункции печени, связанной с БА.

Таким образом, имеются убедительные доказательства, подтверждающие роль заболеваний печени в возникновении и обострении БА. Хотя конкретные механизмы, посредством которых заболевание печени влияет на мозг, остаются неясными, похоже, что дисфункция печени может ускорить прогрессирование БА за счет нарушения клиренса А β . В совокупности эти данные позволяют предположить, что поддержание здоровья печени имеет решающее значение для эффективного клиренса А β и потенциально может снизить риск нейродегенеративных заболеваний, таких как БА.

1.2.2 Метаболизм глюкозы и инсулина

Глюкоза является основным источником энергии в клетке. Глюкоза участвует в синтезе АТФ, ГАМК, ацетилхолина, аспартата, глутамата. Нарушение регуляции и утилизации глюкозы в головном мозге является причиной энергетической недостаточности и окислительного стресса. Известно, что при нормальном старении запас энергии в мозге уменьшается, стрессовых ситуациях он увеличивается.

Существует огромное количество клинических и экспериментальных данных, которые показывают, что значительное снижение метаболизма и транспорта глюкозы в мозге, а также нарушение передачи сигналов инсулина присутствуют в прогрессировании БА.

При БА в клетках мозга наблюдается гипометаболизм глюкозы, энергетическое истощение, возможно, вызывая каскад нарушений с аномальной

продукцией амилоида, клеточной дисфункции и гибели нейрона. Увеличение уровня глюкозы в крови ведет к улучшению когнитивных функций в том числе за счет увеличения холинергической активности, но нельзя путать состояние хронической гипергликемии при хронических заболеваниях ведущих к деменции [121]. При СД 2 типа наблюдается снижение чувствительности к инсулину, что повышает риски БА. А при БА наблюдается нарушение регуляции глюкозы. У животных введение инсулина приводит к снижению памяти, видимо, за счет гипогликемии. У пациентов с БА повышение инсулина при сохранении начальных уровней глюкозы демонстрирует улучшение когнитивных показателей [121, р. 540-547]. Таким образом, поддержание нормального энергетического запаса, необходимо влияние адекватных значений глюкозы и инсулина. Результаты показывают, что более высокий уровень глюкозы в крови, даже за десятилетия до диагноза и смерти –и даже среди недиабетиков – может оказывать вредное воздействие на старение мозга среди людей с генетическим риском [122]. При БА хроническая церебральная гипоперфузия и гипометаболизм глюкозы предшествуют десятилетиям снижения когнитивных функций. Исследование показало, что уровень глюкозы в крови выше среднего может увеличить риск деменции у пациентов, не страдающих диабетом. Следовательно, когда уровень глюкозы в крови повышается, а чувствительность рецепторов к инсулину снижается, нарушается способность к обучению и обработке памяти, снижается когнитивная функция, увеличивается риск БА и ускорение прогрессирования БА [123].

1.2.3 Липиды крови

Изменению липидного обмена в развитии БА или как ключевого фактора риска заболевания посвящено немало работ. Растущее число биохимических и биологических исследований доказывает участие нарушения обмена холестерина в патогенезе заболевания. Увеличение внутринейронального холестерина и/или его нарушение внутринейронального его распределения может приводить к патологической агрегации и кумуляции А β и гиперфосфорилированию тау белка и нарушению пластичности нейронов. На уровень холестерина в мозге напрямую не влияет более высокий уровень холестерина в плазме, поскольку холестерин не может проходить через ГЭБ. Однако, гиперхолестеринемия, вызванная диетой, связана с увеличением продукции А β и патологией БА [124]. Таким образом, косвенные механизмы, следующие за атеросклерозом или повреждением сосудов головного мозга, могут играть роль в патологии БА, связанной с холестерином. Высокий уровень холестерина в плазме, особенно в среднем возрасте, нарушает гомеостаз холестерина и считается фактором риска БА [125]. По данным Чжэна и др., высокие уровни ЛПНП и низкие уровни ЛПВП могут вызывать ухудшение БА [126]. Керриск и др. продемонстрировали, что полиморфизм рецепторов липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) коррелирует с риском деменции, особенно при смешанной и сосудистой деменции [127]. Уровень холестерина ЛПНП был связан со всеми показателями нейропатологии БА (нейрофибриллярные клубки, бета-амилоид, стадия Браака, модифицированный

показатель CERAD и глобальная патология БА) и церебральной амилоидной ангиопатией независимо от АРОЕ после поправки на возраст, пол, использование препаратов, снижающих уровень холестерина, индекс массы тела, курение и образование при частоте ложных открытий, p -значение $<0,05$. У пациентов с БА наблюдались более высокие уровни ЛПНП и ОХ (SMD = 0,27, 95% ДИ: 0,04–0,51, $p = 0,02$ для ЛПНП-С; SMD = 0,25, 95% ДИ: 0,05–0,46, $p = 0,02$) для ТС) по сравнению с таковыми у здоровых людей. Люди с более высокими уровнями Х-ЛПНП и/или ОХ имели повышенный риск развития БА (ОШ = 1,64, 95% ДИ: 1,07–2,51 для ХС-ЛПНП и ОШ = 1,58, 95% ДИ: 1,10–2,92 для ОК)) [128]. В перекрестном исследовании среди 1037 женщин с сердечно-сосудистыми заболеваниями [129], участвовавших в рандомизированном исследовании гормональной терапии, наблюдались значительные тенденции к улучшению когнитивных функций с уменьшением квартиля общего холестерина и холестерина ЛПНП ($p = 0,01$ и $0,02$ соответственно) после поправки на многочисленные потенциальные мешающие факторы. Кроме того, при изучении изменений уровня холестерина в плазме за предыдущие 4 года наблюдались значительные тенденции к улучшению показателей по модифицированному MMSE со снижением уровней общего холестерина или холестерина ЛПНП ($p = 0,02$ для обоих).

Кроме того, другие исследования указывают на связь между концентрациями холестерина ЛПВП в плазме и риском деменции и болезни Альцгеймера [130]. Высокие уровни холестерина ЛПВП были связаны с накоплением нейрофибриллярных клубков и нейритных бляшек в головном мозге [131]. В другом исследовании повышенный уровень общего холестерина, ЛПНП, триглицеридов при нормальном уровне ЛПВП и соотношения общего холестерина/ЛПВП характеризуют липидный профиль при БА. Кроме того пациенты с БА имели более высокий средний показатель триглицеридов и глюкозы в плазме крови, а также более низкую среднюю концентрацию в плазме холестерина ЛПВП по сравнению с контролем [132]. Таким образом, большинство предыдущих исследований на людях продемонстрировало связь триглицеридов в сыворотке крови и БА или сосудистой деменции. Предыдущие исследования показали, что факторы риска ССЗ, в том числе повышенное содержание холестерина и триглицеридов повышают вероятность развития БА и деменции [133]. Большинство исследований, показали что повышение холестерина в среднем возрасте связаны с развитием БА. В отличие от холестерина, окисленные метаболиты холестерина, известные как оксистерины, такие как 24S-гидроксихолестерин (24S-ОНС) и 27-гидроксихолестерин (27-ОНС), способны проходить через ГЭБ и все чаще признаются, что они играют ключевую роль в развитии БА. Гомеостаз холестерина в мозге определяется биосинтезом холестерина и диффузией оксистеролов между кровью и мозгом. Когда уровень холестерина превышает физиологическую основу, он преобразуется в 24S-ОНС и активно выводится из нейрональных клеток из-за своей нейротоксичности. На ранних стадиях болезни Альцгеймера в плазме обнаруживаются более высокие уровни 24S-ОНС. Однако уровень 24S-ОНС в сыворотке был снижен в случае хронической и поздних стадий БА, что

соответствует клиническим наблюдениям, показывающим, что влияние общего холестерина в сыворотке на риск деменции происходит в среднем возрасте, но не в позднем возрасте. Хотя на поздних стадиях БА наблюдается снижение уровня 24S-ОН, содержание других оксистеринов, таких как 27-ОНС и 25-гидроксихолестерин, значительно увеличивается. Высокие уровни 27-ОНС обнаруживаются в мозге и спинномозговой жидкости при БА с ранним началом, а также при спорадической БА [134]. Имеются исследования, демонстрирующие связь между БА и повышенным уровнем триглицеридов в крови натощак и связь БА с метаболическим синдромом. В недавнем исследовании на людях была установлена значительная связь липидов в том числе повышенное содержание триглицеридов с БА [135]. Исследования выявили, что не триглицериды плазмы, а продукты липолиза триглицеридов могут быть наиболее значимыми липидами для изучения с точки зрения патогенеза БА [136].

Популяционное исследование показало, что холестерин в сочетании с гипертонией в среднем возрасте значительно повышает риск развития БА в более позднем возрасте [137]. Однако, во Фрамингемском исследовании сердца гиперхолестеринемия была связана с улучшением когнитивных функций. С помощью жидкостный хроматограф-масс-спектрометр (ЖХ/МС) на образцах плазмы пациентов с БА, ЛКН и контрольной группой не было обнаружено связи между холестерином и БА [132, р. 1505-1-1505-36], а также не было различий в частоте пациентов с БА и контрольной группы, которым назначались статины. Эти противоречивые результаты между уровнем холестерина и амилоидогенезом или риском БА позволяют предположить, что гомеостаз холестерина в мозге жестко регулируется, и как низкие, так и высокие уровни могут привести к БА.

1.3 Роль периферического воспаления в патогенезе болезни Альцгеймера

1.3.1 Цитокины

Воспаление головного мозга является одним из признаков БА, и современная тенденция заключается в том, что медиаторы воспаления, особенно цитокины и хемокины, могут представлять собой ценные биомаркеры для раннего скрининга и диагностики заболевания [138]. Активация иммунной системы, наблюдаемую при БА называют нейровоспалением. Воспаление является реакцией на устранение как первоначальной причины повреждения клеток, так и некротических клеток и тканей, возникших в результате первоначального повреждения. Если здоровье тканей не восстанавливается, воспаление становится хроническим состоянием, которое постоянно разрушает окружающие ткани. При этом типе воспаления повреждение тканей и заживление протекают одновременно. Нейротоксины, нейрофибрилярные клубки белка тау, накопление бляшек Аβ в фенотипах зрелых нейронов, дисфункция митохондрий и нейровоспаление в совокупности включают в себя нейродегенерацию при БА. Митохондриальная дисфункция приводит к

накоплению вредных активных форм кислорода (АФК), которые впоследствии вызывают апоптозное снижение [139].

Воспаление головного мозга является патологическим признаком БА. Однако характерные признаки воспаления, такие как отек, жар и боль отсутствуют в головном мозге, и поэтому мы говорим здесь о хроническом воспалении. Характерной особенностью хронически воспаленных тканей является наличие повышенного количества моноцитов, а также тканевых макрофагов моноцитарного происхождения, то есть клеток микроглии в ЦНС. Воспаление явно происходит в патологически уязвимых областях мозга при БА с повышенной экспрессией белков острой фазы и провоспалительных цитокинов, которые практически не проявляются в нормальном мозге. За воспалительную реакцию ответственны микроглия, астроциты и нейроны [140].

Активированные клетки активно продуцируют медиаторы воспаления, такие как провоспалительные цитокины, хемокины, воспалительные белки макрофагов, хемоаттрактантные белки моноцитов, простагландины, лейкотриены, тромбоксаны, факторы свертывания крови, активированные формы кислорода (и другие радикалы), оксид азота, факторы комплемента, протеазы, пентраксины и СРБ. Гипотеза состоит в том что трудноизлечимая природа бляшек и клубков стимулирует хроническую воспалительную реакцию для удаления этого дегриса [141]. Эти бляшки содержат дистрофические нейриты, активированную микроглию и реактивные астроциты. Агрегированные амилоидные фибриллы и медиаторы воспаления. Кроме того хронически активированная, секретлируемые клетками микроглии и астроцитами, способствует дистрофии нейронов. Кроме того хронически активированная глия может убивать соседние нейроны, высвобождая высокотоксичные продукты, такие как промежуточные соединения кислорода и оксид азота, протеолитические ферменты, возбуждающие аминокислоты [138, p. 575-589]. Медиаторы воспаления и ряд стрессовых состояний, в свою очередь усиливают продукцию APP и амилоидогенный процессинг APP, индуцируя продукцию пептида амилоида β -42(A β 42). Эти обстоятельства также тормозят образование растворимой фракции APP, обладающей нейропротекторным действием. С другой стороны, A β индуцирует экспрессию провоспалительных цитокинов в клетках глии в порочном цикле, активацию каскада комплемента и индукцию воспалительных ферментных систем, таких как индуцируемый оксид азота, синтазы и фермента циклооксигеназы (ЦОГ-2). Несколько линий доказательств свидетельствуют о том, что все эти факторы могут способствовать дисфункции нейронов и гибели клеток либо по отдельности, либо совместно [142].

Имеющиеся данные убедительно указывают на центральную роль воспаления при БА. Это воспаление опосредовано провоспалительными цитокинами и может создать хроническое самоподдерживающееся воспалительное взаимодействие между активированной микроглией и астроцитами, напряженными нейронами и бляшками A β . Амилоидные пептиды и их белок предшественник являются мощными глиальными активаторами [142, p. 51-1-51-16; 143]. Микроглия и астроциты являются основными

источниками продукции цитокинов при БА. Таким образом, предполагается, что накопление Аβ является сильным индуктором нейровоспалительной реакции при БА, воздействуя на микроглию увеличивает продукцию IL-6 и V-CSF [144].

Цитокины представляют собой небольшие неструктурные белки с молекулярной массой от 8000 до 40000 Да. Цитокины секретируются различными иммунными клетками и неиммунными. Биологические эффекты, вызываемые цитокинами, включают стимуляцию или ингибирование клеточной пролиферации, цитотоксичность, противовирусную активность, рост и дифференцировку клеток, воспалительные реакции и усиление экспрессии белков поверхностных мембран [145]. Основной функцией цитокинов является регуляция дифференцировки Т клеток от Т хелперов до регуляторных клеток. Эти регуляторные белки включают IL, интерфероны, колониестимулирующие факторы ЦСЖ, TNFα и некоторые факторы роста. Было показано, что многие из этих цитокинов продуцируются нейронами или глиями, и имеет ряд сообщений указывающих на изменения их уровней в мозге, крови, спинномозговой жидкости при БА. Уровни IL-1α, IL-1β, IL-6, TNFα, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора GMSF, IFNα, рецептора для CSF-1, как сообщается повышены в ткани головного мозга [140, p. 756357-1-756357-14; 143, p. 2790-1-2790-26].

Сообщалось в ряде взаимодействий между цитокинами и компонентами сенильных бляшек при БА, что позволяет предположить что может образоваться порочный круг. Таким образом, говорят что белок Аβ бляшек потенцирует секрецию IL-6, IL-8 активированными IL-1β клетками астроцитомы, IL-6 и TNFα липополисахаридными стимулированными астроцитами, а IL-8 моноцитами. Цитокины также могут стимулировать секрецию ряда других белков, обнаруженных в сенильных бляшках. Более того между цитокинами и Аβ могут также возникать синергетические эффекты. Например, сообщается, что IFNγ взаимодействует с Аβ, вызывая высвобождение TNFα и реактивных форм азота, токсичных для нейронов [146]. Некоторые цитокины явно способствуют воспалению и называются провоспалительными цитокинами, тогда как другие цитокины подавляют их активность называются противовоспалительными. Например, IL-4, IL-10, IL-13 являются мощными активаторами В-лимфоцитов, однако являются мощными противовоспалительными агентами. Было показано что ингибирование TNFα уменьшает амилоидные бляшки и фосфорилирование тау – белка у мышей. IFNγ обладает противовирусной активностью так же как и IFNβ, IFNα. IFNγ является активатором пути, поражающего цитотоксические Т-клетки, однако IFNγ считается провоспалительным цитокином, поскольку он увеличивает активность TNF и индуцирует NO [147]. Представление о том, что функция некоторых цитокинов в первую очередь заключается в индукции воспаления, в то время как основная функция других цитокинов заключается в подавлении воспаления, является фундаментальной для биологии цитокинов, а также для клинической медицины. Следовательно, считается что «баланс» между эффектами провоспалительных и противовоспалительных цитокинов

определяет исход заболевания будь то в краткосрочной или долгосрочной перспективе. На самом деле, данные некоторых исследований показывают, что предрасположенность к заболеванию генетически определяется балансом или экспрессией либо провоспалительных либо противовоспалительных цитокинов [140, p. 756357-1756357-14; 146, p. 136-1-136-14].

Несколько исследований продемонстрировало, что хроническое воспаление играет центральную роль в патофизиологии депрессии и деменции. Измененная активация иммунной системы и последующее состояние хронического воспаления, скорее всего, строго коррелирует с дисфункцией ГГНС, наблюдаемой у пациентов с депрессией [148]. Было высказано предположение что как высокие уровни кортизола, так и активация иммунной системы могут быть объяснены развитием резистентности глюкокортикоидных рецепторов, обнаруженной у пациентов с депрессией. У пациентов с депрессией наблюдаются более высокие уровни провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ , TNF- α , а также повышенное содержание белков острой фазы, хемокинов и молекул клеточной адгезии. С другой стороны сниженные уровни противовоспалительных цитокинов, таких как IL-4, IL-10, TGF β 1, были обнаружены в плазме пациентов с депрессией [149]. Различные исследования подтвердили положительную корреляцию между тяжестью симптомов депрессии и нарастанием воспалительного статуса мозговой нейротрофический фактор (BDNF) [150].

Нейротрофины необходимы для поддержания нейронального гомеостаза и модуляции синаптической пластичности. Изменение уровней и активности нейротрофических факторов, таких как BDNF, TGF- β 1 описаны как при депрессии так и при БА. Значительное снижение BDNF обнаружено при депрессии, вызванной стрессом. Стресс снижает передачу сигналов опосредованную BDNF в гиппокампе, в то время как хроническое лечение антидепрессантами увеличивает его передачу сигналов. Нарушение передачи сигналов BDNF наблюдается и при БА, и связан с синаптической дисфункцией, нейродегенерацией и когнитивным дефицитом. Интересно, что генетические вариации, например, наличие однонуклеотидного полиморфизма, нарушающий передачу сигналов BDNF значительно увеличивает риск депрессии у пациентов с БА. BDNF также может взаимодействовать в ЦНС с другими нейротрофинами, таким как TGF- β 1. TGF- β 1-противовоспалительный цитокин, регулирующий баланс между Т хелпер1 и Т хелпер2, защищая нейроны от эксайтотоксичности, гипоксии, ишемии, кумуляции β -амилоида [149, p. 433-439; 150, p. 652-1-652-24].

В свою очередь, изменения микробиоты кишечника вызывают дисбаланс иммунной регуляции организма, что приводит к развитию и прогрессированию различных инфекционно-воспалительных заболеваний, при этом существует предположение, что развитие спорадического БА может быть обусловлено микробиом ассоциированным периферическим воспалением [151]. Похоже, что воспалительно-инфекционная гипотеза БА, которая играет важную роль в микробиоме кишечника, начинает постепенно затмевать гипотезу амилоидного каскада, которая доминировала в течение многих лет. Тем не менее,

механизмы, связывающие периферическое воспаление с нейродегенерацией, остаются неясными. Недавние наблюдения показывают, что определенная часть микробиоты кишечника вызывает нейровоспаление у грызунов [152]. Имеющиеся данные также связывают амилоидоз головного мозга со специфическими воспалительными кишечными бактериальными таксонами и маркерами системного воспаления у пожилых людей с расстройствами когнитивных функций [151, р. 1098386; 153]. Вышеуказанные данные продемонстрировали повышение концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов (IL-6, CXCL2, NLRP3, IL-1 β) у дементных участников исследования с амилоидозом мозга. Это повышение совпадает с уменьшением количества *E. Rectale* и увеличением количества *Escherichia/Shigella* в образцах фекалий. Такие наблюдения подтверждают гипотезу о том, что микробиота кишечника провоцирует периферическое воспаление, которое, в свою очередь, может усиливать амилоидоз головного мозга, нейродегенерацию и когнитивные нарушения при БА [153 р. 1232-1247]. Тем не менее, для подтверждения этих ассоциаций необходимы углубленные исследования. Таким образом, настоящее исследование направлено на изучение микробного профиля кишечника у пациентов с БА и изучение возможных связей между микробиотой кишечника, уровнями цитокинов в крови и конкретными клиническими показателями.

1.3.2 С-реактивный белок

Долгое время считалось, что воспаление играет жизненно важную роль в патофизиологии психических расстройств у взрослых [154]. Психонейровоспалительная теория была подтверждена предыдущими исследованиями, которые показали, что стимуляция оси ГГНС приводила к высвобождению кортикотропин – рилизинг гормоны провоспалительными цитокинами, такими как интерлейкин IL-13 IL-6 и фактор некроза опухоли ФНО- α [155]. Повышение уровня периферических IL-1 β , IL-6 и TNF- α может быть потенциальным биомаркером предрасположенности к психическим расстройствам у взрослых, но их роль для пожилых людей остается неизвестной. Воспаление может играть патологическую роль в психических расстройствах у пожилых людей, поскольку провоспалительное состояние связано со старением. Старение облегчает провоспалительное состояние, разрушая периферическую иммунную систему, что приводит к чрезмерной активности врожденного иммунитета с высвобождением провоспалительных цитокинов и уменьшением количества противовоспалительных молекул. Мета-анализ деменции всех причин показал, что повышение уровней периферического IL-6 и Среактивный белок (СРБ) было связано с повышенным риском развития деменции [156]. Тем не менее, другой метаанализ показал, что не было существенной разницы в средних уровнях СРБ между пожилыми людьми с болезнью Альцгеймера и без нее [157].

СРБ широко известен как прототип реагента острой фазы, белок, вырабатываемый печенью, уровень которого заметно увеличивается в крови в течение нескольких часов после любой травмы или заболевания, вызывающего

повреждение тканей. Исследование на людях показывает, что повышенный уровень СРБ в крови влияет на аполипопротеин Е (АРОЕ) $\epsilon 4$, но не на генотип АРОЕ $\epsilon 3$ или АРОЕ $\epsilon 2$, увеличивая риск болезни Альцгеймера (БА). Однако неизвестно, участвует ли СРБ непосредственно в клеточном патогенезе БА и в каких типах нейрональных клеток-носителей АРОЕ $\epsilon 4$. В нашем исследовании использовались данные когорты потомков Фрамингемского исследования сердца и было обнаружено, что хронически повышенный уровень С-реактивного белка (СРБ) влияет на риск БА только у носителей АРОЕ $\epsilon 4$, но не у носителей АРОЕ $\epsilon 3$ и АРОЕ $\epsilon 2$; [158] другое исследование показало, что СРБ связан с биомаркерами таупатии в спинномозговой жидкости (СМЖ) только у носителей АРОЕ $\epsilon 4/\epsilon 4$ [159]. Однако неясно, участвует ли СРБ непосредственно в клеточном патогенезе БА в присутствии АРОЕ $\epsilon 4$.

С-реактивный белок представляет собой белок острой фазы, объем распределения которого в крови увеличивается при наличии состояния, инфекционного или системного, вызывающего нейровоспалительную реакцию. СРБ является предполагаемым биоиндикатором, представляющим интерес для прогнозирования когнитивного старения и может указывать на повышенный риск как обширного инсульта, так и БА [160]. СРБ также был идентифицирован в областях лобной коры у людей с диагнозом БА и у здоровых людей из контрольной группы, что указывает на вероятную патологическую роль в развитии и/или прогрессировании патологии БА [161]. СРБ может также отражать изменения на более поздних стадиях БА, которые происходят с интеграцией β -амилоида-40 по мере созревания нейритных бляшек [160, р. 87-91; 161, р. 103-111]. Экспрессия СРБ была увеличена в областях мозга, которые демонстрировали патологию БА в виде амилоидных отложений и нейрофибриллярных клубков, однако СРБ отсутствовал в неповрежденных областях [162]. Недавний метаанализ 170 исследований продемонстрировал повышенный периферический уровень высокочувствительного СРБ у лиц с диагнозом БА по сравнению со здоровыми людьми, хотя некоторые исследования обнаружили противоположные результаты с более низкими уровнями СРБ у лиц с БА [163]. Кроме того, следует учитывать половые характеристики, поскольку в нескольких отчетах было обнаружено, что уровень СРБ имел статистически значимую отрицательную связь с когнитивными функциями только у женщин, в то время как другие сообщают об эффекте у только у мужчин [164].

1.3.3 Провоспалительные цитокины

Цитокины секретируются глиальными клетками вокруг бляшек А β . Нарушения воспалительных и иммунных путей при БА тесно связаны с измененными уровнями некоторых белков острой фазы и провоспалительных цитокинов в крови, спинномозговой жидкости и мозге. Пептиды А β могут напрямую запускать экспрессию глиальными клетками нескольких провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6, TNF- α и IFN- γ . Провоспалительные цитокины, такие как MIP1, YKL40, TNF и их рецепторы, sTREM2, явно участвуют в патологии тау и в процессе старения [165].

Исследования патологии показали, что провоспалительный цитокин интерлейкин (IL)-1 β сверхэкспрессируется в мозге пациентов с болезнью Альцгеймера в шесть раз в отличие от группы контроля, особенно вблизи амилоидных бляшек. Этот метаанализ сообщает о значительно более высоких концентрациях цитокинов с провоспалительным действием таких как IL-6, TNF- α , IL-1 β , IL-12 и IL-18 в периферической крови пациентов с БА в отличие от когнитивно здоровой группы [165, p. 930-940].

IL-1 является важным инициатором иммунного ответа, играя ключевую роль в возникновении и развитии сложного гормонального и клеточного воспалительного каскада. Было подтверждено что IL-1 играет роль в дегенерации нейронов. IL-6 представляет собой многофункциональный цитокин, играющий важную роль в защите хозяина с основными регуляторными эффектами на воспалительную реакцию. IL-6 принадлежит к нейропоэтиновому семейству цитокинов и оказывает как прямое, так и косвенное нейротрофическое действие на нейроны. IL-6 способствует развитию астроглиозу, активирует микроглию и стимулирует выработку белков острой фазы [166].

TNF- α играет центральную роль в иницировании и регуляции цитокинового каскада во время воспалительной реакции. Уровни экспрессии TNF- α в здоровом мозге низкие, что затрудняет определение его точной роли в физиологических условиях. Глиальные клетки секретируют как TNF- α , IL-1, которые, в свою очередь, аутокринно активируют эти клетки, вызывая дальнейшую продукцию цитокинов и астроглиоз. С другой стороны, сообщалось, что TNF- α обладает нейропротекторными свойствами в головном мозге БА. Продукция интерлейкинов, других цитокинов и хемокинов может также приводить к активации микроглии, астроглиозу и дальнейшей секреции провоспалительных молекул и амилоида, тем самым закрепляя каскад [140, p. 756357-1-756357-14].

Известно, IL12p70 провоспалительный цитокин, вызывает эксайтотоксичность, повреждение нейронов головного мозга путем стимуляции IL7 в микроглии [140, p. 756357-1-756357-14]. В предыдущих исследованиях обнаружено значительное увеличение IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70, IP-10, MCP-1, PEG2 и TNF- α в сыворотке крови у пациентов с БА и болезнью Паркинсона [167]. В другом исследовании сывороточные уровни IL12p70 не обнаружены у пациентов с БА [167, p. 1-9]. В одном исследовании уровни IL12p70 в сыворотке крови зависели от стадии БА. В частности, повышение уровня цитокина наблюдалось при легкой и средней формах БА, в то время как при тяжелой форме отмечалось его снижение. В другом исследовании отмечено, что высокие уровни IL12p70 связаны с медленным снижением когнитивных функций, меньшим количеством тау белка и нейродегенерацией у участников с высоким уровнем A β [168].

IP10 – белок, индуцируемый гамма интерфероном (CXCL10), повышен при некоторых нейродегенеративных заболеваниях и при рассеянном склерозе, опосредует нейродегенерацию, вызванную инсультом [169]. Уровень белка 10, индуцируемого интерфероном- γ (IP-10), особенно повышается при легких

когнитивных нарушениях и, по-видимому, снижается по мере прогрессирования БА [169, р. e0231013]. В ранее проведенных исследованиях отмечается, что интерферон- γ - индуцируемый белок IP-10 играет роль в развитии БА, о чем свидетельствует высокие его концентрации в спинномозговой жидкости [170]. Данные результаты согласуются в другими работами где, уровень CXCL10 (IP-10) в плазме/сыворотке был значительно повышен у пациентов с БА по сравнению с группой сравнения, с большим размером эффекта (среднее соотношение 1,92; 95% ДИ 1,03–3,58, $p=0,039$); $I^2=99,4\%$) в 78 БА и 64 контрольных группах [171].

Метаанализ показал, что концентрации IP-10 в плазме был значительно повышен у пациентов с БА по сравнению с группой сравнения [172]. Однако изменения IP-10 (CXCL10) оказались спорными. Сообщалось, что уровень или ген IP-10 в сыворотке не повышался при легких когнитивных нарушениях и БА [169, р. e0231013], что позволяет предположить, что IP-10 не является фактором риска БА. Между тем, другое исследование показало, что концентрация IP-10 в спинномозговой жидкости значительно увеличивается у пациентов с легкими когнитивными нарушениями и легкой формой БА, но не у пациентов с тяжелой формой БА, а корреляция между уровнем IP-10 и возрастом не обнаружена [169, р. e0231013; 172, р. 104246].

1.3.4 Противовоспалительные цитокины

Напротив, IL-1ra, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, TGF-противовоспалительные цитокины, принадлежащие к субпопуляциям клеток Th2 и Th3, оказывают защитное действие против БА, противодействуя эффектам провоспалительных цитокинов, могут подавлять гены провоспалительных цитокинов [173]. Нарушение баланса между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами в пользу провоспалительных цитокинов приводит к циклу дальнейшей продукции цитокинов, синергизму цитокинов и клеточной активации.

Функционально IL-4 и IL-10 противостоят действию провоспалительных цитокинов, IL-4, стимулируя дифференцировку наивных Т-клеток в невоспалительные типы Т-клеток, и IL-10, подавляя выработку цитокинов всеми типами Т-клеток [170, р. 114-1-114-25].

Вторая общая категория цитокинов проявляется противовоспалительными цитокинами, такими как IL-1ra, IL-4, IL-10 и TGF- β . Эти ингибирующие цитокины могут подавлять выработку и действие провоспалительных цитокинов, что имеет решающее значение для концепции баланса между про- и противовоспалительными цитокинами. Клинические последствия нарушения регуляции ЦНС в этом балансе могут привести к продукции цитокинов и синергическим действиям цитокинов и могут вызвать цикл усиления клеточной активации и цитотоксичности. In vitro IL-1ra подавляет индуцированную IL-1 β продукцию TNF- α iNOS в астроцитах [174]. IL-1ra также защищает от нейротоксичности IL-1 β . Кроме того, in vivo IL-1ra ослабляет ишемическое и эксайтотоксическое повреждение нейронов. IL-4 оказывает ингибирующее действие на экспрессию и высвобождение

провоспалительных цитокинов, он способен блокировать или подавлять моноцитарные цитокины, включая IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8 и MIP-1 α и стимулирует синтез IL-1ra. Другой механизм, с помощью которого IL-4 оказывает нейропротекторное действие, может быть связан с ингибированием IFN- γ и последующим снижением концентрации TNF- α и NO [175]. IL-10 является одним из основных противовоспалительных цитокинов, ограничивает воспаление, уменьшая синтез провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 и TNF- α , подавляя экспрессию рецептора цитокинов и ингибируя активацию рецептора в головном мозге. IL-10 ингибирует TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, MIP-1 α и MIP-2 α моноцитов/макрофагов [176]. TGF- β является важным регулятором клеточной пролиферации, дифференцировки и формирования внеклеточного матрикса [177]. TGF- β способен превращать активный очаг воспаления в участок, где преобладает репарация. Кроме того, TGF- β подавляет пролиферацию и дифференцировку Т-клеток и В-клеток и ограничивает продукцию IL-2, IFN- γ и TNF [178]. Однако в другом метаанализе более высокие концентрации TGF- β в плазме при БА по сравнению с контрольной группой, у которой были описаны противовоспалительные свойства. Тем не менее, роль TGF- β при БА остается спорной, особенно потому, что наивные Т-клетки, стимулированные TGF- β , могут приобретать провоспалительный фенотип в присутствии IL-6, что также было обнаружено в метаанализе повышен у пациентов с БА [178, р. 989-1001].

RANTES (CCL5) главный хемокин, экспрессирующийся в мозге, нейропротектор после ишемического инсульта за счет нейрональной индукции нейротрофических факторов в перинфарктных зонах, что приводит к увеличению выживаемости нейронов посредством аутокринных и паракринных механизмов. Было описано, что RANTES(CCL5) подавляется в плазме пациентов с БА [179]. В предыдущем исследовании, где изучали уровни цитокинов в крови, было обнаружено снижение уровня RANTES у пациентов с БА средней степени тяжести. При прогрессировании БА снижение его в сыворотке указывало на снижение иммунного ответа. Что подтверждается исследованием, где в частности, относительный уровень экспрессии CCL5 был ниже у пациентов с БА, чем в контрольной группе ($p < 0,005$) [180]. Однако есть исследования с противоположными результатами. Повышенные уровни CCL5 были обнаружены в плазме и микрососудах головного мозга пациентов с БА по сравнению с контрольной группой, с отрицательной корреляцией между уровнем CCL5 и возрастом, а также продолжительностью заболевания. Однако уровни CCL5 не коррелировали с когнитивными показателями [181]. Одно исследование показало, что уровень RANTES был значительно выше у пациентов с БА, чем у контрольных субъектов, и положительно коррелировал с уровнями IL-6 и TNF- α , подразумевая, что CCL5 способствует патогенезу БА, опосредуя воспалительную реакцию, и является потенциальным биомаркером для ранней диагностики заболеваний [182].

PDGF.AB.BB нейропротектор, способствует выживанию нейронов, индуцирует нейрогенез в дофаминергических нейронах [183]. Поскольку PDGF обладает нейропротекторным действием, связанным с активацией астроцитов,

его снижение соответствует провоспалительному проповреждающему состоянию что соотносится с данными предыдущих исследований, где снижение уровня PDGF-BB в плазме коррелировало с легкими когнитивными нарушениями, наблюдаемыми у пациентов с БА [184]. Таким образом, PDGF-BB является полезным биомаркером у предсимптомных лиц с легкими когнитивными нарушениями [184, р. 63-73].

FGF2 нейротрофин и медиатор повреждения нейронов; повышение уровня наблюдается при различных нейродегенеративных заболеваниях. Иммунореактивность обнаружена в астроцитах сенильных бляшках, нитях нейропилей и нейрофибрилярных клубках при БА. Беллуардо и его коллеги продемонстрировали, что активация FGF-2 может успешно предотвратить потерю нейронов в кортикальных и гиппокампальных областях мозга [185]. На крысиных моделях было обнаружено, что FGF-21 улучшает нейродегенерацию, опосредованную сенильными бляшками. Эффекты были достигнуты за счет минимизации окислительного стресса посредством путей, опосредованных PP2A/MAPK/HIF-1 α [143, р 2790-1-2790-26].

Все больше данных свидетельствует о том, что воспаление вносит значительный вклад в патогенез БА. Генерация и секреция провоспалительных медиаторов могут на нескольких уровнях взаимодействовать с нейродегенерацией. Таким образом, провоспалительные цитокины могут не только способствовать гибели нейронов, но и влиять на классические нейродегенеративные пути, такие как процессинг APP и тау фосфорилирование. Сопутствующее высвобождение противовоспалительных медиаторов может частично противодействовать этому действию, что в конечном итоге приведет к хроническому заболеванию. Будущие исследования должны определить, могут ли стратегии противовоспалительного лечения влиять на течение БА, а также необходимы клинически новые подходы к анализу раннего нейровоспаления в головном мозге человека, чтобы улучшить способы мониторинга и контроля стратегий лечения, нацеленных на воспалительные механизмы.

1.4 Роль микробиоты кишечника в патогенезе болезни Альцгеймера

1.4.1 Микробиоценоз кишечника

Одним из важных факторов, влияющих на здоровье человека и привлекающих все большее внимание ученых в течение последних двух десятилетий, является микробиом кишечника. В кишечнике человека обитают ~1000 видов и 7000 штаммов бактерий (всего 10¹³-10¹⁴ микроорганизмов), среди которых наиболее распространены бактерии, относимые к Firmicutes (51%) и Bacteroidetes (48%) [186].

К фирмикутам относятся как грамположительные, так и грамотрицательные виды, например, представители рода *Lactobacillus* (грамположительные), *Eubacterium* (грамположительные), *Clostridium* (грамположительные). Bacteroidetes – это грамотрицательные бактерии родов *Bacteroides* и *Prevotella*. Оставшийся 1% бактерий принадлежит к другим

отделам, таким как Proteobacteria (грамотрицательные, в частности род Escherichia, Actinobacteria (грамположительные, в частности род Bifidobacterium

Fusobacteria (грамотрицательные), Spirochaetes (грамотрицательные), Verrucomicrobia (грамотрицательные) и Lentisphaerae (грамотрицательные) [187]. До недавнего времени считалось, что кишечный микробиом участвует в процессах, протекающих исключительно в кишечнике, таких как ферментация углеводов, синтез витаминов (в частности, витаминов В и К), метаболизм ксенобиотиков, а также выступает в качестве барьера для патологических процессов [188]. Однако за последние 15 лет функции кишечного микробиома подверглись пересмотру благодаря установлению прямой связи между плотностью и видовым составом кишечного микробиома и рядом патологических состояний, включая диабет, ожирение и сердечно-сосудистые заболевания. Эти заболевания, в свою очередь, являются установленными факторами риска развития спорадической болезни Альцгеймера, и есть данные, указывающие на то, что микробиом кишечника влияет на функции мозга [189]. Более того, недавние исследования выявили значительные различия в количестве и качестве кишечного микробиома у пациентов с БА по сравнению с психически здоровыми людьми того же возраста [190].

С другой стороны, негативные аспекты образа жизни людей, живущих в современном обществе, также считаются важными факторами риска развития БА с поздним началом. Наиболее поразительным результатом приведенного выше эпидемиологического исследования является то, что радикальный рост заболеваемости БА в Японии и значительный рост заболеваемости в развивающихся странах связаны с изменениями в национальных диетах [191]. Более того, в современном обществе существует множество нежелательных факторов образа жизни, которые могут способствовать развитию БА. К этим факторам относятся неправильное питание, недостаток сна, нарушение циркадных ритмов, хронический шум, малоподвижный образ жизни и т.д., а микробиом кишечника, в свою очередь, очень чувствителен к этим факторам. С этой точки зрения изучение связи современного образа жизни, микробиома кишечника и болезни Альцгеймера является важной задачей, требующей особого внимания. Понимание взаимосвязей между микробиомом человека и мозгом, а также факторов, влияющих на эти взаимоотношения, может способствовать более глубокому пониманию этиологии БА и может послужить основой для разработки профилактических мер по предотвращению или замедлению прогрессирования заболевания.

1.4.2 Ось мозг-кишечник-микробиота

За последние 10 лет накоплен значительный объем информации о действии микробиома на центральную нервную систему (ЦНС) и предложена концепция «ось мозг-кишечник-микробиота» [192]. ЦНС регулирует проницаемость, секрецию, моторику и иммунитет пищеварительного тракта, оказывая влияние на кишечную нервную систему, мышечную ткань и слизистый слой кишечника через эфферентные вегетативные нервные пути

[193]. В свою очередь, микробиом кишечника способен влиять на функции мозга через афферентные сигнальные пути и через секрецию биологически активных веществ [194]. Имеется ряд опубликованных данных, показывающих влияние дисбактериоза кишечника, вызванного изменением режима питания, применением антибиотиков, нестероидных противовоспалительных препаратов, а также наличием патогенных микроорганизмов, на когнитивные функции головного мозга [195].

Например, показано, что острый стресс и инфекция, вызванные условно-патогенной бактерией *Citrobacter Rodentium*, приводят к нарушениям памяти у мышей C57BL/6 [196]. У стерильных мышей Swiss-Webster, выращенных в условиях, исключающих постнатальное существование бактерий в кишечнике, наблюдался дефицит пространственной и рабочей памяти независимо от инфекции и стресса. Это сопровождалось снижением экспрессии нейротрофического фактора мозга (мозгового нейротрофического фактора, BDNF) [196, p. 1-14]. BDNF является одним из ключевых нейротрофинов, играющих важную роль в синаптической пластичности, и имеются данные о снижении уровней BDNF в мозге и сыворотке крови пациентов с болезнью Альцгеймера [197]. Напротив, исследования, проведенные Neufeld et al. выявили повышение уровня BDNF в центральной миндалине стерильных мышей, снижение экспрессии мРНК, кодирующей рецептор серотонина (5HT1A) и субъединицу NR2B рецептора NMDA (ионотропный глутаматный рецептор, избирательно связывающий N-метил-D-аспартат) в зубчатой кости. фасция гиппокампа [198].

Ван и др. показали, что у крыс дисбактериоз кишечника, вызванный применением ампициллина в течение 1 месяца, снижал уровень NMDA-рецепторов и минералокортикоидов в миндалевидном теле, повышал агрессивность животных и вызывал нарушение пространственной памяти при наличии в кишечнике штамма *Lactobacillus fermentum* NS9. микробиом нормализовал эти параметры [199]. Другое исследование Liang et al. показали, что пробиотик *Lactobacillus helveticus* NS8 значительно улучшает когнитивные нарушения, вызванные хроническим стрессом, у крыс Sprague-Dawley, выращенных в стерильных условиях [200]. *L. helveticus* NS8 также снижал уровень кортикостерона и адренкортикотропного гормона в плазме и повышал содержание противовоспалительного цитокина IL-10, восстанавливал уровень серотонина и норэпинефрина и повышал экспрессию BDNF в гиппокампе [201]. Аналогичные данные были получены Luo et al. Кроме того, пробиотик *Bifidobacterium Longum* 1714 улучшил когнитивные функции у самцов мышей BALB/c [202].

Исследования образцов стула, полученных от трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий ген APP и PS1 (CONVR-APPPS1, животная модель БА), показали существенные различия в составе кишечного микробиома этих животных по сравнению с мышами дикого типа [203]. У 8-месячных мышей CONVR-APPPS1 отмечено достоверное снижение количества Firmicutes, Verrucosmicobia, Proteobacteria и Actinobacteria, а также увеличение содержания бактерий, относящихся к Bacteroidetes и Tenericutes, по сравнению

с мышами дикого типа аналогичного возраста. Кроме того, наблюдалось значительное снижение отложений А β в мозге мышей CONVR-APPPS1, выращенных в стерильных условиях, по сравнению с животными того же генотипа, выращенными в стандартных условиях. Микробиота, полученная из кишечника мышей CONVR-APPPS1, выращенных в нормальных условиях, при введении в кишечник мышей, выращенных в стерильных условиях, приводила к увеличению патологических отложений А β в ЦНС, тогда как трансплантация фекалий от мышей дикого типа не приводила к увеличению значительное повышение уровня А β в мозге [204].

Клинические данные в ходе исследования по изучению кишечного микробиома у населения старшего возраста подтверждают результаты, полученные у лабораторных животных. Найдена ассоциация амилоидных отложений человеческого мозга с провоспалительными кишечными бактериальными группами и системными воспалительными маркерами у людей старшей возрастной группы, страдающих расстройствами когнитивных функций [205]. Полученные результаты исследования демонстрируют, что у больных деменцией с амилоидными отложениями в мозге повышение уровня провоспалительных цитокинов в крови (IL-6, CXCL2, NLRP3 и IL-1 β) сопровождается уменьшением содержания *E. rectale* и повышенное содержание эшерихий/шигелл в фекальных образцах. Показана положительная корреляционная связь между цитокинами с провоспалительным действием и количеством кишечных бактерий с провоспалительным действием, относящихся к таксону *Escherichia/Shigella*, в образцах стула, тогда как между цитокинами с провоспалительным действием и кишечными бактериальными группами с противовоспалительным действием была найдена отрицательная корреляция, данные бактерии принадлежали к таксону *E. Rectale* [206].

Исследование микробиома кишечника у участников исследования в Центре исследований БА (исследовательский центр БА Висконсинска, США) обнаружило существенные отличия в микробиомном составе кишечника у больных БА и когнитивно здоровых людей на филумном и видовом уровнях [207]. Эти исследования продемонстрировали снижение количества бактерий типов *Firmicutes* и *Actinobacteria* (в частности, бактерий рода *Bifidobacterium*), а также увеличение количества бактерий типов *Bacteroidetes* и *Proteobacteria* в микробиоме кишечника больных БА. В итоге у больных БА и когнитивно здоровых участников исследования установлены количественные различия между тринадцатью родами бактерий. А также, продемонстрирована дифференциальная корреляция между маркерами БА в спинномозговой жидкости, такими как А β 42/А β 40, p-tau, а также коэффициентом А β /p-tau и уровнями определенных родов кишечных бактерий [208]. Медицинский университет Чунцина (КНР), провели исследования, где были также обнаружены существенные различия в бактериальном составе кишечника, у участников с БА в нижеперечисленных таксономических группах, как *Bacteroides* и *Actinobacteria*, *Ruminococcus* и, *Lachnospiraceae* и *Selenomonadales* [209]. При этом, изменения качественного состава кишечного микробиома у участников в Китае были отличны от таковых в Висконсине, США. Чжуанг и

другие показали уменьшение количества бактериальных таксонов, принадлежащих к типу Bacteroidetes, в то время как количественный состав бактерий типа Firmicutes не изменилось при сравнении со здоровым контролем. Этническая особенность, коморбидные заболевания, образ жизни и диетические предпочтения могут являться факторами, влияющими на данные различия [210].

Надо учитывать преимущественную роль функционального состава кишечной микробиоты в независимости от бактериальных таксонов кишечника. В этом отношении Лю и др. провели функциональный анализ микробиома участников с БА, участников с легкими когнитивными нарушениями (ЛКН), амнестический вариант и когнитивно здоровых людей на основе функционального пути энциклопедии генов и геномов Киото [211]. При использовании вышеуказанных путей было идентифицировано 5 измененных функциональных ортологов у участников с БА. К примеру, при БА функционируют обогащенные ортологи, связанные с механизмами бактериальной секреции (мембранный транспорт) и биосинтезом липополисахаридов (биосинтез и метаболизм гликанов), в отличие от респондентов с ЛКН и когнитивно здоровыми участниками. Тогда как, другие функциональные системы такие как, связанные с биосинтезом N-гликанов, биосинтезом фенилаланина, тирозина и триптофана, а также метаболизмом гистидина в метаболизме аминокислот, были истощены у участников с БА, но обогащены у пациентов с ЛКН по сравнению с когнитивно здоровым контролем [212]. Таким образом можно утверждать, что изменения таксономического и функционального состава кишечного микробиома имеют влияние на функции головного мозга.

Кишечный микробиом способен влиять на развитие патологии мозга с накоплением амилоидного белка и потенциальную роль кишечного микробиома патогенетического фактора при БА, ссылаясь на данные мировой литературы. При этом, кишечный микробиом представляет собой динамическую модифицируемую систему, высоко чувствительную к образу жизни и возрастным изменениям, старению.

1.4.3 Кишечный микробиом, нейровоспаление нейрдегенерация

Поскольку пожилой возраст является основным фактором риска развития БА, возрастные физиологические изменения, в том числе изменения микробиома, могут играть определенную роль в развитии деменции. В связи с этим ряд исследований показал, что состав микробиома кишечника претерпевает значительные изменения с возрастом [213]. Показано, что общие возрастные изменения в составе микрофлоры кишечника включают увеличение количества факультативных анаэробов, изменение видового доминирования, при этом наблюдается стабильность общего количества анаэробов [214]. Хопкинс и соавторы заметили, что уровни бифидобактерий и лактобактерий были ниже в группе пожилых людей по сравнению с молодыми людьми [215]. В то время как во взрослом организме присутствуют 4-5 видов рода *Bifidobacterium*, в пожилом возрасте обнаруживается только один из

доминирующих видов этого рода: *Bifidobacterium Teenagelis*, или фенотипически близкие *Bifidobacterium angulatum* и *Bifidobacterium longum* [216]. Одним из возможных объяснений снижения видового и количественного состава бифидобактерий у пожилых людей является уменьшение их адгезии к стенке кишечника за счет изменения химического состава и структуры слизистой оболочки толстой кишки, вызывающего ограничение функциональных и иммунологических реактивности кишечника, а также повышенная восприимчивость к желудочно-кишечным инфекциям [217].

В свою очередь, бактерии *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* активно участвуют в выработке аминокислоты (γ-аминомасляной кислоты, ГАМК) [218]. ГАМК – важнейший тормозной медиатор ЦНС человека и других млекопитающих, участвующий в нейротрансмиссионных и метаболических процессах в головном мозге. Доказано, что уровень аминокислоты в кишечнике коррелирует с ее уровнем в ЦНС. Снижение количества бифидо-и лактобактерий приводит к дисфункции головного мозга, связанной с нарушениями синаптогенеза, депрессией и когнитивными нарушениями [219]. Многие авторы отмечают, что видовое разнообразие *Bacteroides* меняется с возрастом [220]. В исследованиях, проведенных группой ученых под руководством Тонгерена, в микробиоте людей в возрасте от 70 до 100 лет преобладали *Bacteroides/Prevotella*, *Eubacteriumrectale/Clostridium coccoides* и *Ruminococcus* [221].

В микробиоте кишечника пожилых людей показан рост протеолитических бактерий, таких как фузобактерии, пропионибактерии и клостридии, приводящий к развитию гнилостных процессов, особенно у пациентов на постантибиотической терапии. Это подтверждается данными о повышении протеолитической активности [222]. Также обнаружено повышенное количество провоспалительных энтеробактерий, стрептококков, стафилококков и дрожжевых клеток, что может быть связано с повышенным уровнем сывороточных антител к комменсальной (нормальной) микрофлоре кишечника, такой как *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis*. Нездоровое питание связано с БА и микробиомом кишечника.

Так называемая «западная диета», которая характеризуется высоким потреблением насыщенных жиров и добавленных сахаров, является одним из символов современного образа жизни и признанным фактором риска развития БА [223]. Например, было продемонстрировано, что уровень БА увеличился с 1% в 1985 году до 7% в 2008 году в Японии, и это увеличение связано с переходом питания от традиционной японской диеты к западной диете. Фактически, доклинические эксперименты подтвердили, что диета с высоким содержанием жиров может изменить микробиоту кишечника и способствовать развитию деменции [224, 225]. Эти исследования продемонстрировали, что диета с высоким содержанием жиров способствует когнитивным нарушениям, вызывая окислительный стресс и ухудшение апоптоза нейронов посредством инактивации сигнального пути Nrf2 [225, p. 267-287; 226]. Нам и соавторы показали, что диета с высоким содержанием жиров значительно увеличивает отложение амилоида и снижает когнитивные способности у 12-месячных

мышей APP23 [227]. В этом исследовании результаты секвенирования РНК показали, что гены, связанные с иммунным ответом, такие как Trem2 и Tugobp, у мышей, употребляющих пищу с высоким содержанием жиров были активированы, но экспрессия генов, связанных с проекциями нейронов и синаптической передачей, была снижена. Авторы продемонстрировали, что уровни 24 подвидов липидов в мозге значительно модулируются диета с высоким содержанием жиров.

В свою очередь, недавнее исследование характеристик микробиома-метаболизма у мышей 3xTg-БА, генетически предрасположенных к БА и получавших нормальную или жирную диету, продемонстрировало, что кормление с высоким содержанием жиров и генетическая предрасположенность к нейродегенеративным заболеваниям имеют общие аномалии в микробиоме кишечника [228]. Авторы показали, что диета с высоким содержанием жиров изменил бактериальный состав как в толстой, так и в слепой кишке, а также привел к снижению численности микроорганизмов по сравнению с животными, находящимися на обычном диетическом питании. В этом исследовании у мышей диета с высоким содержанием жиров наблюдалось повышенное содержание Firmicutes, чем Bacteroidetes на уровне типа Rikenellaceae, Lachnospiraceae, Enterococcaceae и S24.7 на уровне семейства, а также повышенное количество фекальной рибозы. В слепой кишке также обнаружен высокий уровень клостридий и стафилококков. Исследование сывороточных и фекальных метаболитов выявило дефицит ненасыщенных жирных кислот и холина и избыток кетоновых тел, лактата, аминокислот, ТМА и ТМАО у мышей 3xTg-БА, получавших жирную диету. Эти метаболические изменения были связаны с высоким содержанием Enterococcaceae, Staphylococcus, Roseburia, Coprobacillus и Dorea и низким уровнем Bifidobacterium, что, в свою очередь, связано с когнитивными нарушениями и церебральным гипометаболизмом.

1.4.4 Возможные механизмы, лежащие в основе влияния кишечного микробиома на болезнь Альцгеймера

Снижение численности и видового разнообразия многих полезных анаэробов, таких как Bifidobacterium и Lactobacillus, а также смещение разнообразия микробиоты кишечника в сторону условно-патогенных и патогенных микроорганизмов приводит к изменению локальных химических и иммунологических показателей кишечника и индуцирует транслокацию кишечные бактерии в очаговую лимфоидную ткань [229]. Эти факторы способствуют повышению проницаемости кишечного и гематоэнцефалического барьеров и проникновению патологической микрофлоры и ее метаболитов в головной мозг [230].

С другой стороны, кишечные бактерии способны в больших количествах выделять функциональные амилоидные пептиды и липополисахариды (ЛПС). Амилоидный пептид бактерий способствует различным физиологическим процессам на поверхности бактериальных клеток, таким как образование биопленок, адгезия, взаимодействие с другими бактериальными и

эукариотическими клетками и др. Его структура и биофизические свойства аналогичны патологическому амилоиду человека [231]. Например, провоспалительные условно-патогенные бактерии кишечника, такие как *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* и *Salmonella enterica*, способны секретировать большие количества бактериального амилоидного пептида curli [232]. Пептид Curli, как и A β , образует вторичную структуру из β -складчатых листов и окрашивается тиофлавином и конго красным (красителями, используемыми для окрашивания амилоидных бляшек головного мозга). Показано, что основная структурная субъединица пептида курли, предшественника амилоида gA (gA предшественник амилоида), имеет в своей структуре участки, сходные с A β 42, и что участки могут узнаваться человеческим рецептором TLR2 (Тол подобный рецептор 2) [233]. Взаимодействие TLR2 с пептидом Curli или человеческим A β 42 приводит к активации макрофагов костного мозга и продукции ими провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и IL-1 β . В аналогичном исследовании было показано, что микробный амилоид способен активировать Т-лимфоциты и индуцировать выработку провоспалительных интерлейкинов IL-17A и IL-22 [234]. Эти цитокины способны проникать через гематоэнцефалический барьер и вызывать продукцию активных форм кислорода, активацию сигнальных путей TLR2/1 и NF κ B в микроглии и астроцитах, что напрямую связано с нейровоспалением и нейродегенерацией [234, р. 318-1-318-8]. Кроме того, Чен и др. продемонстрировали, что пероральное заражение старых крыс (ранее подвергнутых лечению антибиотиками) диким штаммом *E. coli*, способным продуцировать функциональный пептид Curli, приводило к увеличению микроглиоза и астроглиоза тканей головного мозга и увеличению экспрессии TLR2, IL6 и TNF [235].

Помимо амилоидного пептида, многие кишечные бактерии секретируют ЛПС. ЛПС являются основными компонентами наружной клеточной стенки грамотрицательных бактерий и в случае проникновения из полости кишечника в кровотоки могут вызывать нейровоспалительные реакции. Литературные данные свидетельствуют о том, что уровень ЛПС в плазме крови больных спорадическим боковым склерозом и БА в три раза превышает физиологическую возрастную норму [236]. Посмертные исследования показали, что уровень ЛПС в неокортексе и гиппокампе у пациентов с БА был в два-три раза (а в некоторых случаях в 26 раз) выше, чем у пожилых людей того же возраста, не страдающих когнитивными расстройствами [236, р. 9100-9106]. Исследования на лабораторных животных показали, что внутрижелудочковое введение ЛПС в течение 4 недель может вызвать хроническое нейровоспаление, гибель нервных клеток II и III слоев энторинальной коры и нарушение долговременной синаптической пластичности нейронов зубчатой извилины гиппокампа, что является одним из характерных признаков поражения височных долей полушарий головного мозга при БА [236, р. 9100-9106].

Имеются также доказательства того, что ЛПС, секретируемый бактериями *Bacteroides fragilis*, может активировать провоспалительный

транскрипционный фактор, участвующий в патогенезе БА в первичных микроглиальных клетках человека [237]. Провоспалительный транскрипционный фактор индуцирует транскрипцию провоспалительных микроРНК, таких как микроРНК-9, микроРНК-34а, микроРНК-125b, микроРНК-146а и микроРНК-155, активируя нейровоспалительные медиаторы и ингибируя фагоцитоз. Например, было показано, что микроРНК-34а ингибирует экспрессию TREM2 (триггерный рецептор, экспрессируемый на микроглии/миелоидных клетках-2), тем самым нарушая фагоцитарную способность микроглии и увеличивая накопление Аβ42 [237, р. e0150211]. В подтверждение этой концепции внутрибрюшинное введение ЛПС мышам линии C57BL/6J приводило к повышению уровня Аβ42 в мозге и вызывало когнитивный дефицит. *In vitro* эндотоксины, секретируемые штаммами *Escherichia coli* (*E. coli*), ускоряют агрегацию Аβ и образование фибрилл. Jaeger и коллеги показали, что внутрибрюшинное введение ЛПС нарушает транспорт Аβ через гематоэнцефалический барьер, увеличивая его приток и уменьшая отток [238]. Было также показано, что внутрижелудочковая инфузия ЛПС в сочетании с аскорбиновой кислотой увеличивает иммунореактивность внутринейронального бета-амилоида [239].

Таким образом, состав микробиома кишечника существенно меняется с возрастом: уменьшается разнообразие полезных бактерий, таких как лактобактерии и бифидобактерии и, напротив, количество «нездоровых» провоспалительных бактерий, таких как пропионибактерии, фузобактерии, шигеллы, а количество клостридий увеличивается. Кроме того, нездоровые факторы современного образа жизни, включая диету с высоким содержанием жиров, малоподвижный образ жизни, недостаток сна, нарушение циркадных ритмов и хронический шум, аналогичным образом изменяют состав кишечного микробиома, тем самым усугубляя негативное воздействие старения. В свою очередь, отсутствие пробиотических штаммов влияет на синтез и секрецию нейротрофических факторов, таких как BDNF, рецептор NMDA и ГАМК, в то время как провоспалительные таксоны микробиоты кишечника способны секретировать бактериальный амилоид и липополисахариды, которые считаются нейротоксичными [240]. Поскольку у пожилых людей наблюдаются нарушения барьерных функций кишечной стенки и гематоэнцефалического барьера, эти эндотоксины способны проникать из полости кишечника в кровоток и далее в ткани головного мозга и оказывать прямое и/или системное негативное воздействие на структуру и функции ЦНС и способствуют развитию нейровоспаления и нейродегенерации.

Недавние исследования убедительно свидетельствуют о том, что микробиом кишечника и полости рта способен модулировать нейрохимические и нейрометаболические сигнальные пути мозга посредством формирования двусторонней оси связи, включающей эндокринную и иммунную системы, и способствовать развитию нейровоспалений и нейродегенерации. В свою очередь, существует сильная корреляция между БА и факторами современного образа жизни. Это факт, что нездоровое питание, недостаток сна, нарушение циркадных ритмов, хронический шум и малоподвижный образ жизни связаны с

нейродегенерацией. Сосредоточив внимание на механизме взаимодействия между факторами образа жизни и БА, мы можем оценить вклад изменения современного общества в увеличение распространенности БА. Однако решение этой проблемы невозможно без понимания ее взаимосвязи с другими аспектами, и микробиом кишечника имеет решающее значение для этого взаимодействия. С этой точки зрения значительный интерес представляет изучение состава микробиома кишечника у больных БА и здоровых людей пожилого возраста. Это могло бы выявить новые связи между микробиомом кишечника, образом жизни и деменцией, а также помочь разработать практические рекомендации по профилактике и лечению этой тяжелой патологии. Таким образом, обнаружение биомаркеров, связанных с кишечными микробами и воспалением, которые можно будет использовать для ранней диагностики и профилактики БА путем лечения нейровоспаления, улучшения кишечного барьера и регулирования микробиома, основанный на лучшем понимании двунаправленной связи между мозгом и микробиотой должно являться целью будущих исследований.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Верификация диагноза болезнь Альцгеймера

Согласно цели и задачам исследования был спроектирован алгоритм и дизайн исследования по типу случай-контроль (рисунок 4). Объектами исследования явились лица старшей возрастной группы с диагнозом «болезнь Альцгеймера» (случай, n=107) и лица пожилого возраста, не страдающие когнитивными расстройствами (контроль, n=169). Диагноз болезни Альцгеймера устанавливался по критериям Национального института старения и Ассоциации болезни Альцгеймера, 2011 года [241]. Рекрутинг участников на исследование производился в стационарных и амбулаторных лечебно-профилактических учреждениях г. Астана.

Критерии включения в группу «случай»:

- 1) верифицированный вероятный диагноз болезни Альцгеймера;
- 2) возраст 50 лет и старше на момент диагностики и сбора данных;
- 3) добровольное согласие принять участие в исследовании и сдать образцы крови и стула.

Критерии включения в группу «контроль»:

- 1) отсутствие когнитивных нарушений, включая нарушения памяти;
- 2) подходящий пол и возраст;
- 3) добровольное согласие принять участие в исследовании и сдать образцы крови и стула.

Критерии исключения из исследования:

- 1) наличие серьезных соматических заболеваний;
- 2) наличие психического расстройства, не связанного со старческим слабоумием.

Все процедуры испытаний, протоколы, а также сбор и хранение данных были утверждены местным этическим комитетом Центра Наук о Жизни Назарбаев Университета (протокол №05–2020 от 24.09.2020). Все работы проводились в соответствии с рекомендациями Национального этического комитета и Национального института здравоохранения США. Данные исследования не имели никаких негативных последствий для безопасности, поскольку все образцы собирались квалифицированным медицинским персоналом. Применялась стандартная процедура взятия крови из вены руки; объем крови, взятой у субъектов, составлял примерно 30 мл, что не вызывало неблагоприятных последствий для субъекта. Все участники исследования (и/или их опекуны) были проинформированы о цели научно-исследовательского проекта и дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

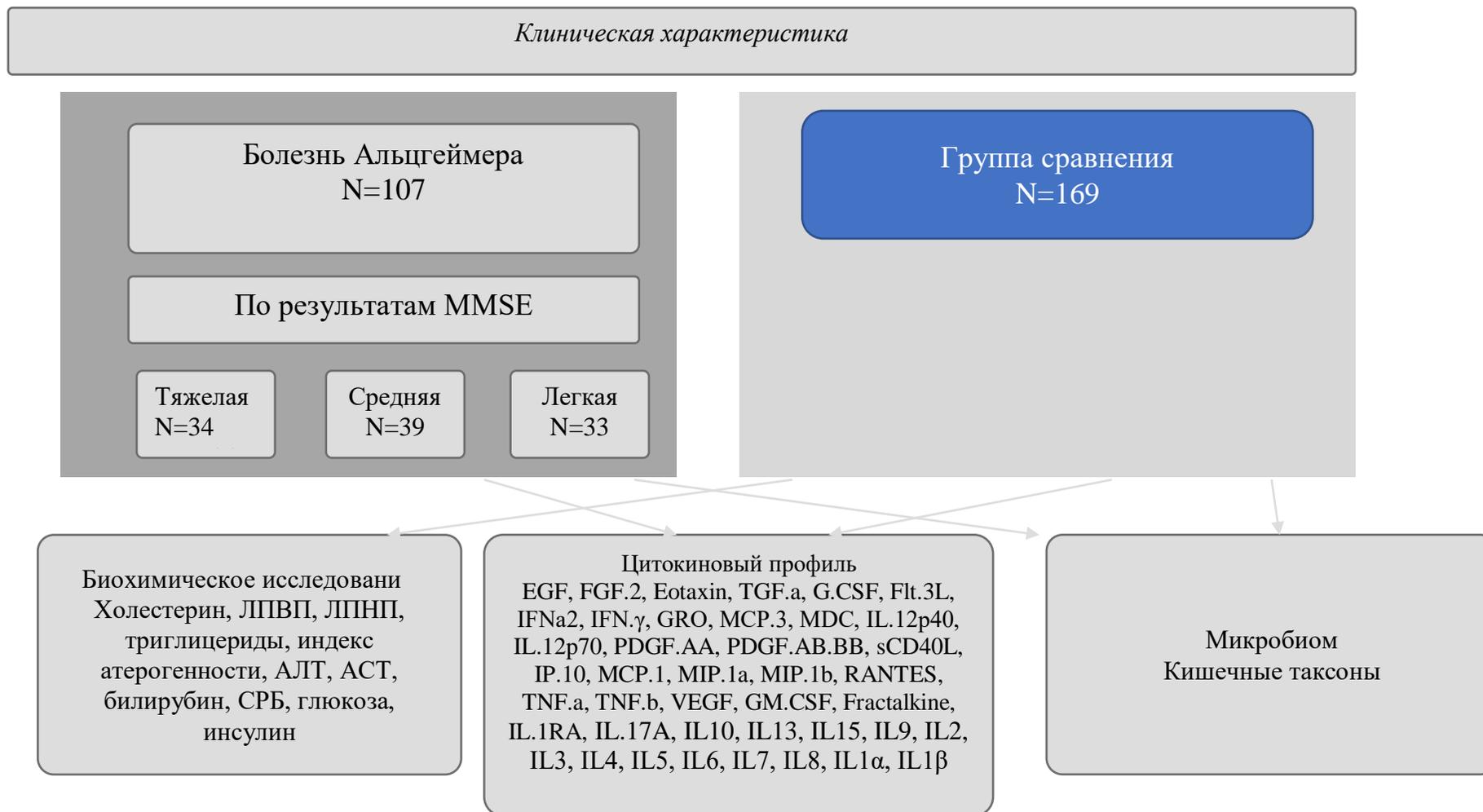


Рисунок 4 – Дизайн исследования, лист 1

Корреляционный анализ

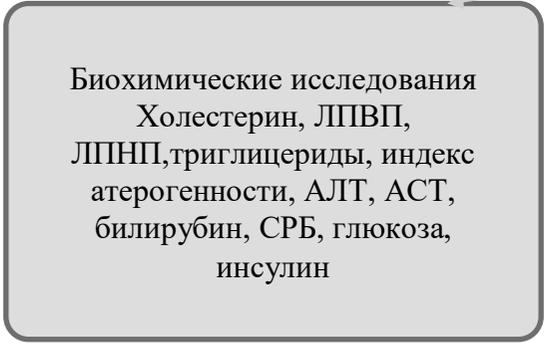
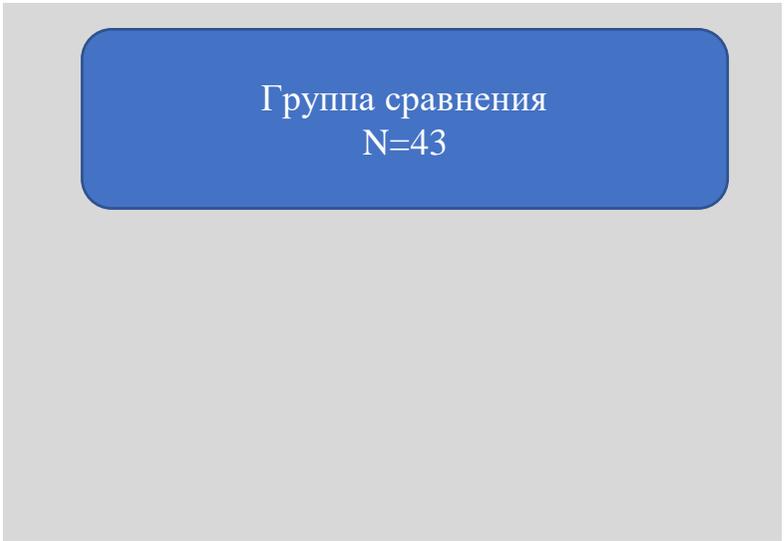
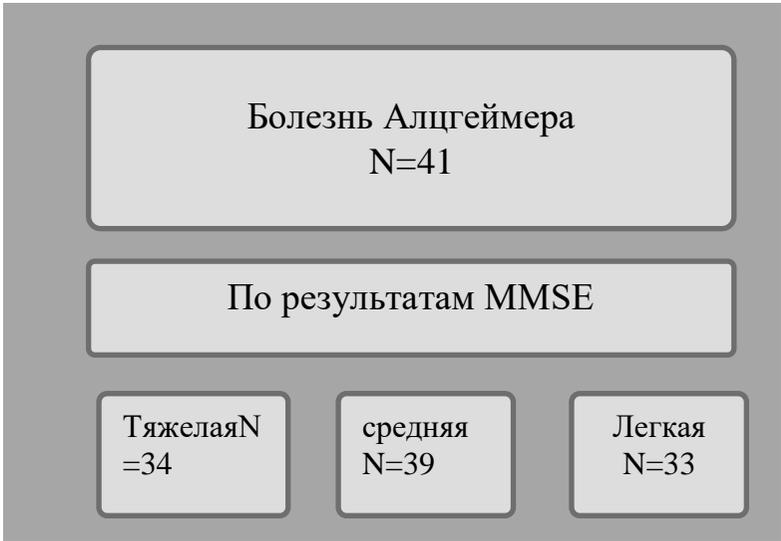


Рисунок 4, лист 2

Всем пациентам группы БА и контрольной группы был проведен анализ анамнеза и субъективных жалоб со слов больного и его родственников, оценка неврологического статуса, нейропсихологические тесты для оценки когнитивных функций, включающие краткую шкалу психоневрологического статуса (MMSE) [242] и теста рисования часов. МРТ головного мозга проводилась всем пациентам с деменцией, чтобы исключить другие неврологические причины, которые могли привести к деменции, такие как опухоли, нормотензивная гидроцефалия, острый синдром и инсульт.

Краткая шкала психоневрологического статуса состоит из 30 вопросов и направлена на неврологическое исследование ориентации, восприятия, внимания и счета, памяти, речи, чтения, письма и копирования. Общий результат психоневрологического статуса получали, складывая баллы по каждому вопросу:

- 28-30 баллов – снижение когнитивных функций отсутствует;
- от 24 до 27 баллов – додементные когнитивные расстройства;
- от 20 до 23 баллов – легкая деменция;
- от 11 до 19 баллов – умеренная деменция;
- от 0 до 10 баллов – деменция тяжелой степени выраженности.

Тест рисования часов представляет собой задание, когда участнику дается задание нарисовать часы с круглым циферблатом с указанием стрелок, которые показывают определенное время. Интерпретация результатов теста производилась следующим образом: 10 баллов присваивается если, нарисован правильный круг, с верной расстановкой цифер и стрелок, с указанием заданного времени исследуемым; 9 баллов присваивается при минимальных ошибках в расположении стрелок; 8 баллов - если неточности в положении стрелок выражены (разница в указании точного времени один час); 7 баллов присваивается в случае когда две стрелки показывают ошибочное время; 6 баллов - стрелки вовсе не отражают время; 5 баллов присваивается при неправильной расстановке чисел (нарушена очередность, либо расстояние); 4 балла присваивается если утрачена целостность часов, отсутствует часть чисел или расположены они за пределы контура часов; 3 балла присваивается в случае отсутствия связи циферблата и чисел; если участник исследования предпринимает попытки выполнить инструкции исследователя присваивается 2 балла, но безрезультативно; в случае если пациент вовсе не пытается выполнить инструкцию врача, безынициативен присваивается 1 балл.

2.2 Лабораторные методы исследования

2.2.1 Биохимический анализ крови

Во время медицинского интервью в клинике у участников исследования производился забор венозной крови натощак квалифицированным медицинским персоналом. Процедура забора крови из вены на руке является рутинной, и объем крови, собранный у участников исследования, составил около 20 мл, что соответствует объему забора во время рутинных анализов амбулаторных учреждений. Для приготовления сыворотки образцы крови

оставляли для свертывания при комнатной температуре на 30 мин, потом центрифугировали в течение 10 мин при 4000 оборотов в минуту. Далее сыворотку отправляли в лабораторию для биохимического анализа крови. У участников исследования проводилось определение биохимических параметров крови: общий холестерин, липопротеиды низкой и высокой плотности, триглицериды, С реактивный белок, общий и прямой билирубин, печеночные трансаминазы, глюкоза, инсулин.

2.2.2 Анализ цитокинов и хемокинов с использованием MILLIPLEX MapHuman Cytokine/ Magnetic Beas Panel на технологии Luminex xMAP Human Cytokine/ Magnetic Beas Panel на технологии Luminex xMAP

Мультиплексный анализ цитокинов с использованием Milliplex (MILLIPLEX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel – Premixed 41 Plex, иммунологический мультиплексный анализ HCYTMAG-60K-PX41, Merck) использовался для оценки уровней интерферона-гамма (IFN-гамма), интерферона-альфа (ИФН- α 2), интерлейкины (ИЛ) ИЛ-1 α ИЛ-1 β ИЛ-1 ρ ИЛ-2 ИЛ-3 ИЛ-4 ИЛ-5 ИЛ-6 ИЛ-7 ИЛ-8 ИЛ-9 ИЛ-10 ИЛ-12 (p40) IL-12 (p70) IL-13 IL-15 IL-17A, фактор некроза опухоли-альфа (TNF-альфа), бета (TNF- β), моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1), белок-3 (MCP-3), IP-10, MDC (CCL22), MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-AA, PDGF-AB/BB, RANTES, sCD40L, EGF, эотаксин/CCL11, FGF-2, лиганд Flt-3, Фракталкин, Г-КСФ, ГМ-КСФ, ГРО. Перед исследованием у каждого участника брали образцы плазмы крови, центрифугировали при 3000 оборотов в минуту в течение 20 минут и хранили при -80°C. Процедура настройки анализа проводилась в соответствии с протоколами производителя. В частности, 25 мкг плазмы (разведенной 1:2) инкубировали с магнитными шариками, покрытыми конъюгированными антителами, в течение 12 часов при 4°C. После промывки комплексы шариков инкубировали с 50 мкл биотинилированного детектирующего антитела в течение 30 минут, при этом планшеты встряхивали при комнатной температуре. Затем добавляли 50 мкл стрептавидин-фикоэритрина и инкубировали в течение 30 минут на шейкере для планшетов при (20–25°C). После трех промываний ко всем исследуемым образцам добавляли по 100 мкл проточной жидкости. Связанные комплексы шариков подсчитывали с помощью системы FLEXMAP 3D с программным обеспечением xPONENT 4.0.

2.2.3 Анализ кишечного микробиома

2.2.3.1 Выделение и амплификация бактериальной ДНК, подготовка ДНК библиотек

Для изучения состава кишечного микробиома участникам исследования раздавались инструкция и специальный набор для самостоятельного забора кала. Согласно инструкции унитаз покрывался белым пакетом с надписью «классА», затем помещали по центру фильтровальную бумагу размером 9*12,5 и производили дефекацию. Кал помещали в специальную пробирку с ложкой и

упаковывали пробирки в мягкий фольговый конверт и хранили в морозильнике при температуре -20С до посещения врача.

Выделение бактериальной ДНК производилось по протоколу QIAamp DNA stool Mini Kit (Qiagen, 51504): взвесили 180–220 мг стула в микроцентрифужной пробирке объемом 2 мл и поместили пробирку в лед. Затем добавили 1,4 мл буфера ASL к каждому образцу стула, вортексировали непрерывно в течение 1 минуты или до тщательной гомогенизации образца стула. Полученную суспензию инкубировали в течение 5 мин при 70°С. Затем вортексировали образец в течение 15 секунд и центрифугировали на полной скорости в течение 1 минуты. Потом перенесли 1,2 мл супернатанта в новую 2 мл микроцентрифужную пробирку и добавили 1 таблетку InhibitEX к каждому образцу и немедленно вортексировали. Образец центрифугировался на полной скорости в течение 3 минут. Затем перенесли весь супернатант в новую 1,5 мл пробирку и отбросили гранулы. Снова центрифугировали образец на полной скорости в течение 3 минут. Далее добавили 15 мкл протеиназы К в новую 1,5 мл микроцентрифужную пробирку и 200 мкл супернатанта в 1,5 мл микроцентрифужную пробирку, содержащий протеиназу К. Затем добавили 200 мкл буфера AL и вортексировали в течение 15 секунд. Инкубировали смесь при 70°С в течение 10 минут. Добавили 200 мкл этанола (96-100%) к лизату и перемешали путем вортексирования. Поместили спин-колонку в 2 мл пробирку для сбора. Нанесли весь лизат на колонку и центрифугировали на полной скорости 1 минуту. Добавили 500 мкл AW1 буфера и центрифугировали 1 минуту. Добавили 500 мкл AW2 буфера и центрифугировали 3 минуты. Затем перенесли в новую 1,5 мл пробирку и добавили 200 мкл AE буфера и центрифугировали 1 минуту.

2.2.3.2 Секвенирование 16S рРНК и анализ последовательности

84 образца больных БА и здоровой группы были объединены в четыре библиотеки в соответствии с данными секвенирования 16S рРНК. Контроль качества необработанных данных осуществляли с помощью программ FastQC v0.11.7 (Andrews S. et al. FastQC: a quality control for high-throughput data-sequence-2010) и MultiQC v1.817. Данные последовательности обрабатывались через конвейер LotuS, с использованием следующих параметров: фильтрация по качеству (минимальная длина = 170, minAvgQuality = 27, Truncate Sequence Length = 170, maxAccumulatedError = 0,75) и демультимплексирование с помощью sdm (pdiffs = 1, bdiff). s = 1). Фильтрация химер осуществлялась с использованием фильтрации химер de novo USEARCH (аннотация обилия = 0,97, абстрактная = 2).

2.2.3.3 Анализ последовательности бактериальной ДНК

ОТУ не бактериального домена и ОТУ с общим количеством чтений менее 0,001% от общего количества чтений во всех образцах были удалены. Все статистические анализы проводились в R v. 4.1.2 [243]; графика была выполнена в R с использованием пакета ggplot2 [244]. Таблица признаков, таксономическое присвоение и файлы филогенетического древа для наборов

данных OTU были импортированы в phyloseq [245] для последующего анализа. Метрики альфа-разнообразия, такие как Shannon [246], Simpson [247], Chao1, Observed, ACE и Fisher, были рассчитаны с помощью phyloseq по абсолютным значениям численности выборки. Для графиков ординации показателей бета-разнообразия количество выборок сначала было преобразовано с помощью метода преобразования стандартизации Хеллингера [248]. Затем рассчитывали взвешенное расстояние Unifrac [249] и строили графики анализа главных координат (PCoA) с расстояния [250].

Тесты ANOSIM и PERMANOVA с 9999 перестановками сравнивали БА и группу сравнения. LEfSe использовался для тестирования численности дифференциальных таксонов с использованием рекомендуемых настроек по умолчанию в соответствии с инструкциями автора [251], при скорректированном $p \leq 0,05$ для значимости и с требованием размера эффекта LDA не менее 2 для каждого значимого вызова. Корреляционный анализ между биомаркерами крови (абсолютные показатели) и OTU (относительные показатели) проводился на основе теста Спирмена. В список биомаркеров крови вошли маркеры, которые имели различия между больными и здоровыми людьми (TBIL, TRIG, CRP, $p < 0,05$). Список OTU представлен таксонами, полученными на основе анализа LEfSe. Кроме того, MaAsLin2 использовался для определения конкретных OTU, связанных с тяжестью заболевания, при этом корреляция считалась значимой на уровне 5% [252].

2.3 Статистический метод обработки и биоинформатический анализ полученных данных

Количественные переменные были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (ИКР). Сравнение качественных данных проводилось с использованием критерия хи-квадрат. Точный критерий Фишера использовался в тех случаях, когда одна или несколько клеток имели ожидаемые значения меньше 5. Возраст и пол были включены в модель в качестве ковариат для контроля их потенциальных искажающих эффектов. Статистическая значимость определялась как значение p , равное или меньшее 0,05. Анализ и визуализация данных проводились с использованием стандартного статистического программного обеспечения, в частности R/RStudio. В этом исследовании мы проанализировали микробиом образцов кишечника, сосредоточив внимание на гене 16 S рРНК. Для этого мы использовали конвейер LotuS2 (Less out Scripts 2) [253]. Мы предварительно обработали исходные данные секвенирования, чтобы исключить некачественные прочтения, и отфильтровали небактериальные последовательности и химеры. Для таксономической постобработки последовательностей ампликона мы использовали SILVA, базу данных генов 16 S рРНК, а также метод LCA (Last Common Ancestor) и кластеризацию последовательностей UPARSE. Химерные последовательности были идентифицированы и удалены с использованием алгоритма UCHIME. Оставшиеся высококачественные последовательности затем были сгруппированы в операционные таксономические единицы (OTE) с порогом

идентичности 97% с использованием конвейера LotuS2. Чтобы оценить функциональные возможности микробиоты кишечника, мы предсказали доступные пути на основе данных секвенирования 16 S рНК с помощью PICRSt2 (филогенетическое исследование сообществ путем реконструкции ненаблюдаемых состояний) версии 2.5.0 с настройками по умолчанию. В этом процессе мы интегрировали ОТЕ в эталонное дерево, охватывающее 20 000 полных последовательностей 16 S рНК из геномов прокариот. Использовалось эталонное дерево с пороговым значением NSTI (индекс ближайшего секвенированного таксона), равным 2. Это эталонное дерево затем использовалось для оценки количества копий семейства генов каждого ОТЕ. Прогнозируемое количество бактериальных метаболических путей было достигнуто с использованием базы данных MetaCys Metabolic Pathway [254]. Статистический анализ и визуализация выполнялись в Python 3.9.16. Ящичные диаграммы, диаграммы скрипки и диаграммы рассеяния иллюстрируют различные многочисленные особенности. Кроме того, кладограмма использовалась для иллюстрации иерархической структуры дифференциально распространенных бактериальных таксонов с использованием библиотеки «LEfSe 1.0.8». Альфа-разнообразие оценивалось с использованием индексов Шеннона, Симпсона, 201 и Chao1. Бета-разнообразие оценивалось с использованием различия Брея-Кертиса на данных, преобразованных по Хеллингеру. Ординацию бета-разнообразия осуществляли с использованием координатного анализа Principal 203 (PCoA). Для оценки композиционного разделения использовались тесты ANOSIM и PERMANOVA с 9999 перестановками. Расчеты альфа- и бета-разнообразия и ординацию PCoA были выполнены с использованием библиотеки «scikit-bio 0.5.6». Дифференциальный анализ таксономических признаков был выполнен с использованием библиотеки «PyDESeq2 0.3.5» [255] с кратным изменением $\log_2(\text{LF2C}) > 0,5$ и скорректированным $p < 0,05$ в качестве порога значимости. Анализ важности функции был выполнен с использованием алгоритма Gradient Boosting Decision Trees (GBDT) с использованием библиотеки «LightGBM 3.3.5» с типом важности, установленным на «усиление», а для других гиперпараметров установлено значение по умолчанию. Производительность по классификации оценивалась с использованием перекрестной проверки одного (LOO) с областью под кривой точного отзыва (AUC) в качестве показателя производительности. Проблема классификации была сбалансированной по классам. Значимость производительности на основе выявленных важных характеристик (IF) оценивалась с использованием теста важности перестановок с 9999 перестановками и квадратным корнем из длины набора данных в виде нескольких стратифицированных складок. Характеристики считались значимыми при $\text{AUC} > 0,5$ и p на основе рукоположения по основным характеристикам было выполнено с использованием анализа главных компонент (PCA) после с применением нормализации z-показателя. Все расчеты важности признаков выполнялись с помощью фиксированного случайного начального числа с использованием библиотеки scikit-learn 1.2.2. Корреляционный анализ был выполнен с использованием ранговой корреляции

Спирмена исключительно для значительно различающихся признаков с использованием библиотек «Matplotlib 3.7.1»¹ и «seaborn 0.11.2». При необходимости сравнение двух групп проводилось с использованием независимого Т-критерия, Т-критерия Уэлча или U-тест Манна-Уитни. 90% доверительные интервалы (ДИ) для различий между медианами были построены с использованием оценщика Ходжеса-Лемана, реализованного в SciPy. Все расчеты, включающие таксономические признаки, проводились с использованием признаков, присутствующих в не менее чем 25% образцов. Статистические тесты были скорректированы для множественных сравнений с использованием процедуры FDR Бенджамини-Хохберга с использованием библиотеки «statsmodels 0.13.5».

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Клиническая характеристика группы

В нашем исследовании участвовало 276 человек. Опытную группу составляли 107 пациентов с диагнозом БА (средний возраст 66,5 лет), а группу сравнения составили 169 пожилых людей без признаков деменции, рассматриваемых как участники без когнитивных нарушений (средний возраст 67 лет). Участники были случайным образом подобраны с учетом пола и возраста. Средний возраст пациентов группы БА составил 66,5 (50-90), группы сравнения 67 (50-86) лет. Обе группы были сопоставимы по полу и возрасту. Доля женщин составила 75% в группе БА и 67% в группе сравнения. Наши данные совпадают с результатами других исследований, где возрастную группу БА составляют люди пожилого возраста и женский пол чаще подвержен заболеванию. По этнической принадлежности, основную долю когорты составляли казахи: 79,5% в группе с болезнью Альцгеймера и 74,3% в группе сравнения. Характеристика группы представлена в таблице 1, и на рисунках 5, 6).

Таблица 1 - Характеристика основной группы и группы сравнения

Характеристика	БА (n=106)	Группа сравнения (n=169)	p
Возраст в годах, медиана (ИКР)	68 (49-90)	67 (50-86)	0,752509
ИМТ, медиана (ИКР)	24.6 (17.1-34.6)	27.5 (16.6-49.6)	0,000376*
MMSE, медиана (ИКР)	15 (0-25)	29 (23-30)	<0.005e*
Тест рисования часов, медиана (ИКР)	3 (0-9)	9 (8-10)	<0.005e*
Пол			
Мужчины, n %	46	70	0.15
Женщины, n %	54	80	
Национальность			
Казахи, n %	89	134	0,095025
Русские, n%	15	28	
Другие, n%	11	12	
* – статистически значимый результат			
Примечания:			
1. ИМТ - индекс массы тела.			
2. MMSE – краткая шкала оценки психического статуса.			
3. ИКР – интерквартильный размах.			
4. Данные представлены в виде M (Q1-Q3).			
5. Для сравнения медиан использовался знаковый ранговый критерий Уилкоксона, а для сравнения частот между группами критерий хи-квадрат			

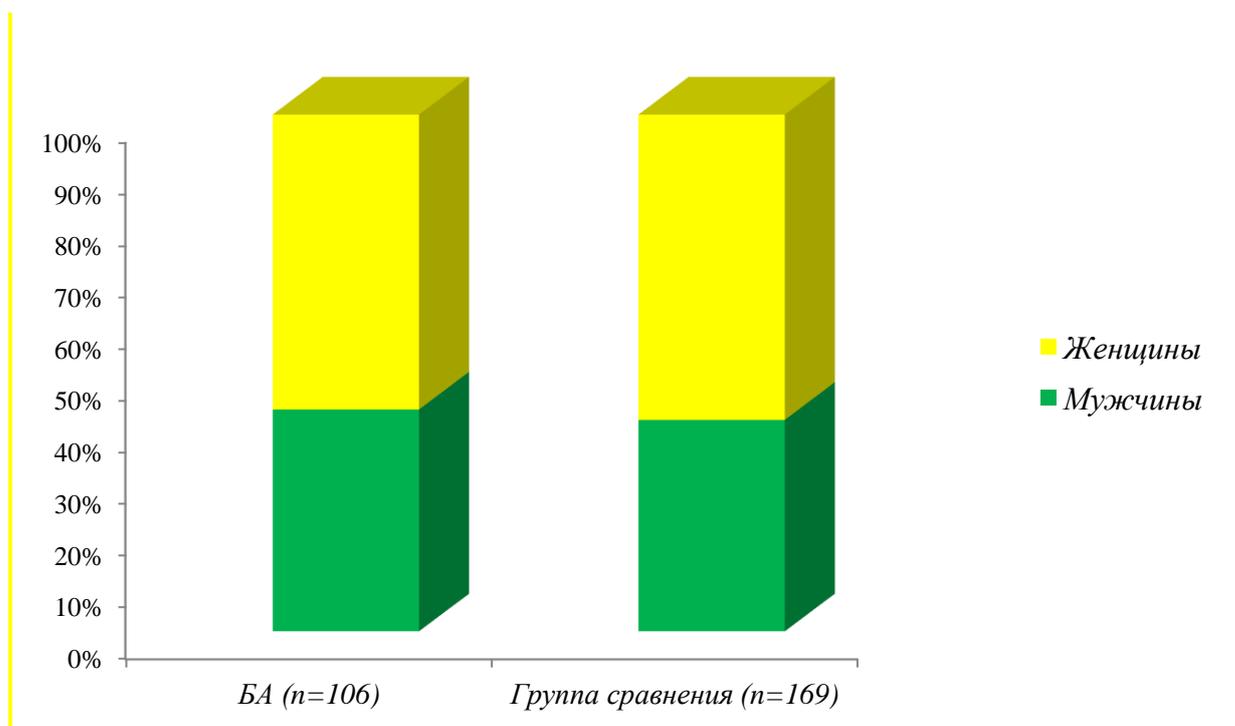


Рисунок 5 – Сравнительная характеристика пациентов с БА и группы сравнения по полу и национальности

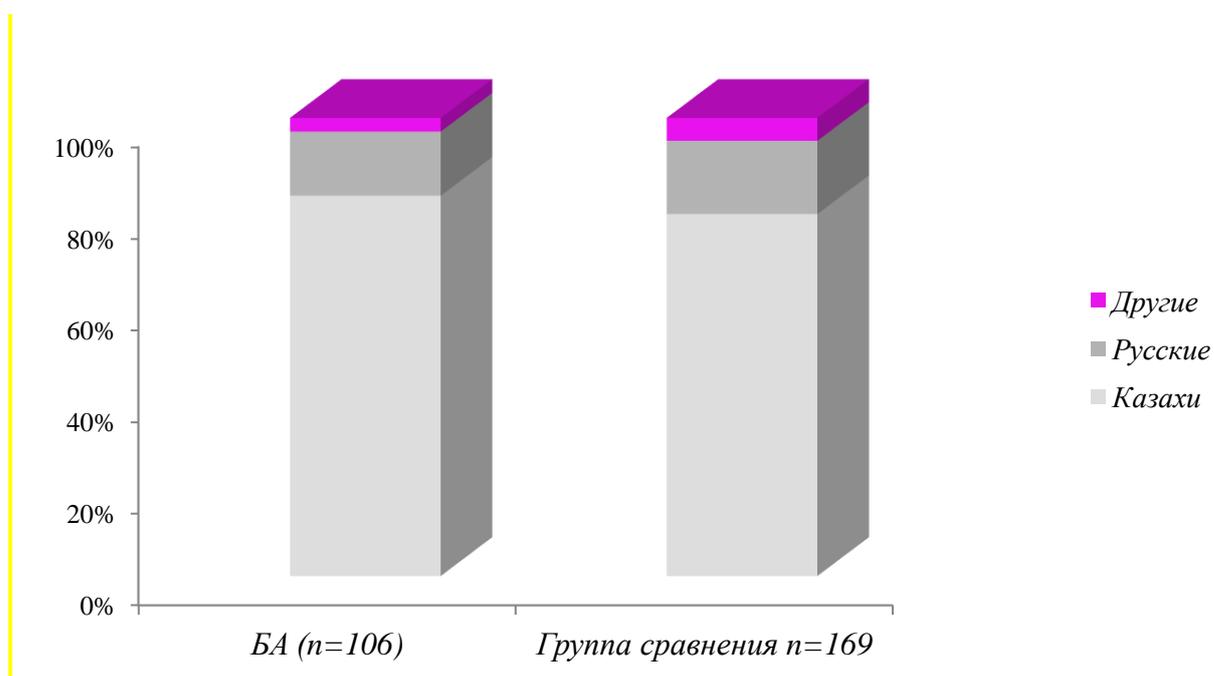


Рисунок 6 – Сравнительная характеристика пациентов с БА и группы сравнения по национальности

Среднее значение MMSE в группе пациентов с болезнью Альцгеймера составило 15 баллов, что было ожидаемо статистически значимо ($p < 0,05$) ниже группы сравнения на 48%, где этот показатель составил 29 баллов. Также при использовании метода оценки выраженности когнитивных нарушений "тест рисования часов" были обнаружены статистически значимые различия между

группами ($p < 0,05$). Средний результат в группе болезни Альцгеймера составил 3 балла что, соответственно, ниже в три раза группы сравнения, где данный показатель составил 9 баллов. При оценке степени тяжести деменции по результатам MMSE(0-9-тяжелая; 10-19-средняя; 20-27-легкая) легкой степени тяжести соответствовали 34 (32%) человек, средней степени 39 (37%) человек, тяжелой соответствовали 33(31%) участника основной группы.

Данные по MMSE, теста рисования часов, гендерному различию представлены в таблице 1.

Следует отметить, что ИМТ статистически значимо ($p=0,000376$) различался между исследуемыми группами и показал более низкие значения в группе БА (24.6 кг/м^2) по сравнению с группой без когнитивных нарушений (27.5 кг/м^2) на 11%. Известно, что ИМТ является индикатором ожирения, в свою очередь, по данным Западно-Европейских и Американских исследований, выступающий фактором риска БА. Однако в нашем исследовании все участники дементной группы имели нормальную ИМТ и/или дефицит веса, по сравнению с группой без когнитивных нарушений, что не согласуется с данными мировой литературы и требует дальнейшего изучения применительно к казахстанской популяции.

Оценка социально-демографических факторов

Данные истории болезни (легкий или тяжелый инсульт в анамнезе, любое другое состояние здоровья, которые могут угрожать их жизни в период исследования), жалобы, социально-демографические данные, и информация о факторах риска были собраны на бумажных опросниках с помощью анкетирования участников исследования и их опекунов. Сбор данных по социально-демографическим показателям и факторам риска включала в себя вопросы по раннему периоду жизни, текущем положении, о круге общения, социально-экономическому положению, состоянию здоровья, инвалидности, поведению и образу жизни и пользованию услугами здравоохранения. Все собранные данные были введены в электронную базу данных с помощью программы EpiData Entry для последующей очистки, хранения и статистической обработки. Описательная статистическая обработка данных была проведена в программном обеспечении MS Excel, Stata 13, R (StataCorp, США).

Оценка социально демографических данных проводилась путем анкетирования пациентов основной группы и группы сравнения по опроснику, в котором оценивались следующие данные: уровень образования, место рождения, курение и употребление алкоголя, артериальная гипертензия, болезни сердца, сахарный диабет, травма головы в анамнезе, клинически значимая депрессия, отягощенная по деменции наследственность среди родственников первой степени родства.

Результаты анкетирования по социально-демографическому опроснику выявили статистически значимые различия по месту рождения ($p=0,002$), уровню образования ($p=0,01$), семейной отягощенности по деменции ($p=0,04$), наличию клинически значимой депрессии в анамнезе ($p < 0,01$), инсульты в анамнезе ($p=0,01$) и АГ ($p=0,004$).

Так, в группе больных с деменцией большая часть, а именно 54% родились и выросли в селе, что статистически значимо ($p=0,002$) выше на 4% группы сравнения, где этот показатель составил 50%, в то время как в большом городе родились только 14% респондентов БА, что статистически значимо ниже на 8% группы сравнения, где этот показатель составил 22%. В группе БА преобладали люди со средне-специальным и/или высшим образованием - 80%, что статистически значимо ($p=0,01$) выше на 25% группы сравнения, где его значение составило 65% (таблица 2, рисунки 7, 8).

Таблица 2 - Социально-демографическая характеристика

Характеристика	БА (n=107)	Группа сравнения (n=169)	P
<i>место рождения, n %</i>			
большой город	12 (14%)	38 (22%)	0,002*
маленький город	27 (32%)	48 (28%)	
село	46 (54%)	43 (50%)	
<i>Образование, n %</i>			
законченное среднее	10 (20%)	48 (35%)	0,01*
высшее/средне-специальное	40 (80%)	91 (65%)	
<i>Инсульты (ОНМК), n %</i>			
Нет	52 (84%)	58 (58%)	0,01*
да	10 (16%)	42 (42%)	
<i>Артериальная гипертензия, n %</i>			
Нет	30 (50%)	34 (34%)	0,004*
да	30 (50%)	66 (66%)	
<i>Заболевания сердца, n %</i>			
Нет	45 (75%)	54 (54%)	0,4
да	15 (15%)	46 (46%)	
<i>Сахарный диабет, n %</i>			
нет	68 (91%)	75 (75%)	0,09
да	7 (9%)	25 (25%)	
<i>Травма головы, n %</i>			
нет	38 (84%)	80 (90%)	0,9
да	7 (16%)	9 (10)	
<i>Семейная отягощенность по деменции, n %</i>			
нет	52 (85%)	73 (95%)	0,04*
да	9 (15%)	4 (5%)	
<i>Депрессии, n %</i>			
нет	34 (60%)	57 (78%)	0,01*
да	23 (40%)	16 (22%)	
<i>Курение, n %</i>			
нет	41 (59%)	72 (72%)	0,24
да	29 (41%)	23 (23%)	

* – статистически значимый результат

Примечания:

1. ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
2. Данные представлены в виде M (Q1-Q3).
3. Для сравнения медиан использовался знаковый ранговый критерий Уилкоксона, а для сравнения частот между группами критерий хи-квадрат

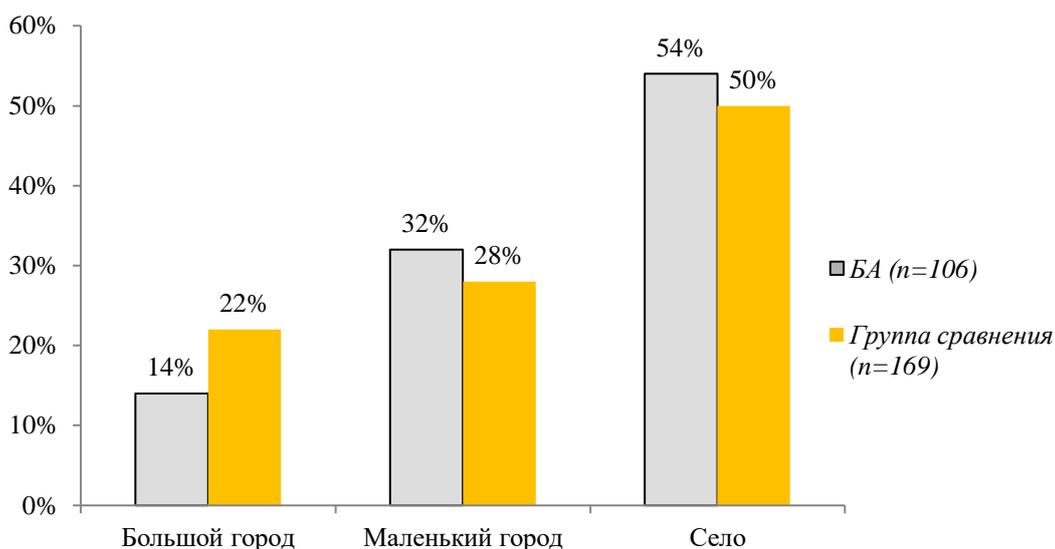


Рисунок 7 – Сравнительная характеристика пациентов с БА и группы сравнения по месту рождения

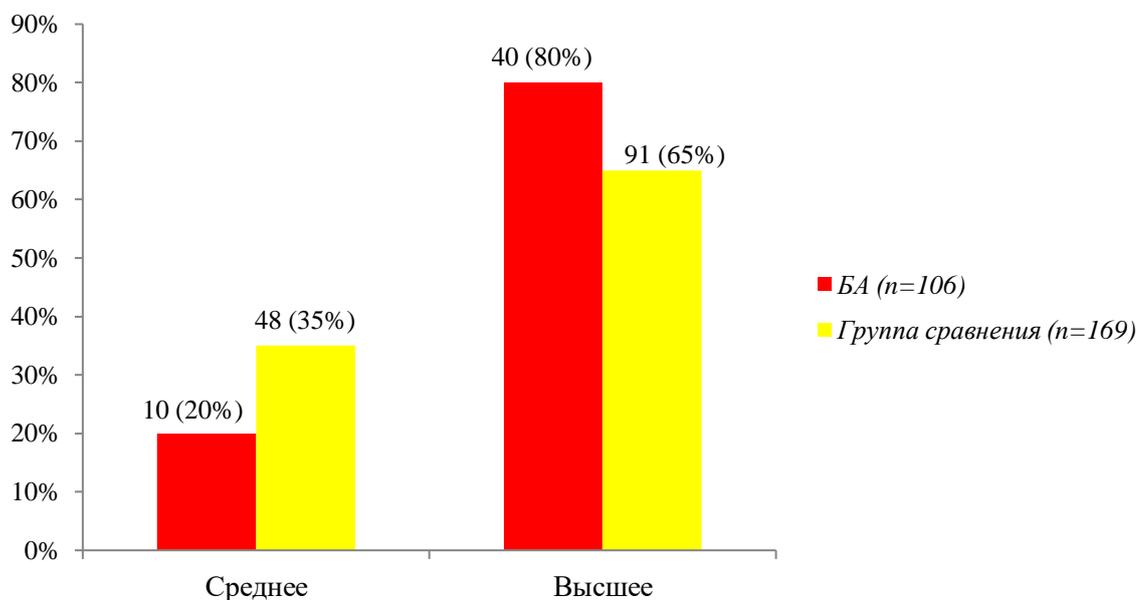


Рисунок 8 – Сравнительная характеристика пациентов с БА и группы сравнения по уровню образования

Полученные нами данные по месту рождения совпадают с большинством ранее проведенных исследований, доказывающий, что исходно более низкий уровень когнитивного резерва, обусловленный рождением в сельской местности может иметь значение в патогенезе БА.

Доля респондентов БА с клинически значимой депрессией в анамнезе составила 40%, что статистически значимо выше ($p < 0,01$) на 18% группы сравнения, где данный показатель составил 22%. Наличие деменции в семейном анамнезе выявило статистически значимые ($p=0,04$) различия между обеими группами. Наследственность по деменции была отягощена у 15% больных деменцией, что больше на 10% группы сравнения, где данный

показатель составил 5%. Семейная отягощенность по деменции, клинически значимая депрессия в анамнезе, по данным литературы является доказанными факторами риска БА, что совпадает с результатами нашего исследования.

Клинически значимую артериальную гипертензию наблюдали у 66 (66%) респондентов группы сравнения, что статистически значимо ($p=0,004$) выше на 16% основной группы, где это значение составило 30 (50%)

Распространенность перенесенных инсультов в анамнезе отметили только 10 респондентов с БА (16%), что статистически значимо ($p=0,01$) меньше на 26% участников без деменции, где его значение составило 42 (42%). В группе БА преобладали люди со средне-специальным и/или высшим образованием - 80%, что статистически значимо ($p=0,01$) выше на 25% группы сравнения, где его значение составило 65%. Следует отметить, что ИМТ статистически значимо ($p=0,000376$) различался между исследуемыми группами и показал более низкие значения в группе БА по сравнению с группой без когнитивных нарушений на 11%. Известно, что ИМТ является индикатором ожирения, в свою очередь, по данным Западно-Европейских и Американских исследований, выступающий фактором риска БА. Однако в нашем исследовании все участники дементной группы имели нормальную ИМТ и/или дефицит веса, по сравнению с группой без когнитивных нарушений, что не согласуется с данными мировой литературы и требует дальнейшего изучения применительно к казахстанской популяции. Несмотря на то, что по данным мировых многоцентровых исследований АГ и цереброваскулярные заболевания и ожирение и низкий уровень образования являются значимыми факторами риска деменции, в нашем исследовании эти данные не получили подтверждение. Возможно, этот факт обусловлен этногеографическими особенностями в казахстанской популяции и требуют дальнейших проспективных исследований.

Данные по сопутствующим заболеваниям и наследственности по деменции представлены в таблице 2, и на рисунке 9.

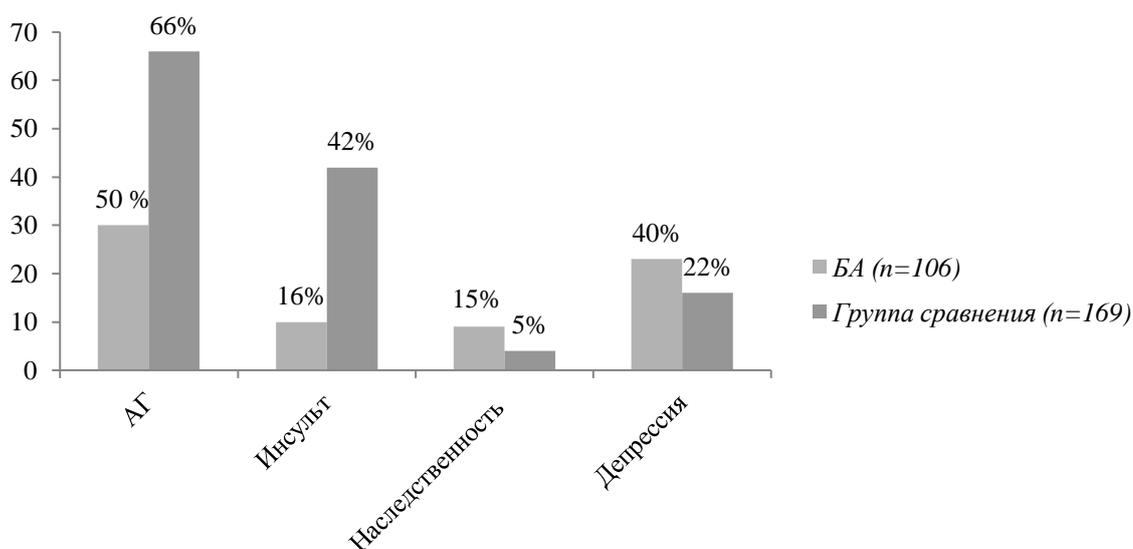


Рисунок 9 – Распространенность сопутствующих заболеваний среди участников исследования

Не было обнаружено значимых различий между исследуемыми группами по курению. Данные по курению представлены в таблице 2.

3.2 Характеристика биохимических параметров у пациентов с болезнью Альцгеймера

Биохимическое исследование крови и последующая статистическая обработка данных, выявили статистически значимые различия по ЛПНП ($p=0,04$), триглицеридам ($p=0,00$), АЛТ ($0,000$), АСТ ($p<0,0001$) и инсулину ($0,04$). Медианные значения ЛПНП в группе БА составили 3,22 ммоль/л, что статистически значимо ($0,04$) выше на 7% по сравнению с группой без когнитивных нарушений, где его медианное значение составили 2,88 ммоль/л. Напротив, медианные значения триглицеридов в основной группе составил 1.08 ммоль/л, что статистически значимо ($p<0,001$) ниже на 22% группы сравнения, где данный показатель составил 1,38 ммоль/л. По аминотрансферазам печени (АЛТ, АСТ) были выявлены статистически значимые различия ($p<0,0001$) между группами. Медианное значение АЛТ в основной группе составил 12.85 мЕ/л, что статистически значимо ниже ($p<0,0001$) группы сравнения на 22%, где его значение составило 16,5 мЕ/л, а медианное значение АСТ составило 17.7 мЕ/л, что статистически значимо ниже ($p<0,0001$) группы сравнения на 5%, медианное значение в этой группе составило 18,6 мЕ/л. Медианное значение инсулина в группе БА составил 7.9 ммоль/л, что статистически значимо ниже ($p<0,04$) группы сравнения на 33%, где этот показатель составил 11,9 ммоль/л. Полученные нами результаты согласуются с данными эпидемиологических когортных исследований, где предполагают о влиянии дисфункции печени на болезнь Альцгеймера. Так в одном исследовании, повышение АСТ/АЛТ и низкие уровни АЛТ были связаны с БА и плохими когнитивными способностями [117, р. e197978; 118, р. 780174], а в другом увеличение соотношения АСТ к АЛТ было связано с увеличением отложением β -амилоида, снижением метаболизма глюкозы в мозге и большей атрофией мозга [119, р. 117-129; 120, р. 3856-3867]. Наши результаты по ЛПНП согласуются с данными международных многоцентровых исследований, где повышение ЛПНП является показателем дислипидемии и фактором риска церебральной ангиопатии, что способствует снижению когнитивных функций и является фактором риска деменции (таблица 3, рисунки 10, 11).

Таблица 3 – Характеристика биохимических показателей крови

Параметр	БА n=107	Группа сравнения n=169	Р
1	2	3	4
общий холестерин, ммоль/л	4.7 (1.26-8.13)	4.65 (1.39-6.91)	0,66
ЛПВП, моль/л	1.22 (0.3-2.66)	1.26 (0.16-2.2)	0,47
ЛПНП, моль/л	3.22 (0.89-6.37)	2.88 (0.61-5.03)	0,04*
Триглицериды, ммоль/л	1.08 (0.31-2.59)	1.38 (0.49-4.45)	0,00*
Атеросклеротический индекс (ЛПНП/ЛПВП)	2.8 (0.8-5.6)	2.6 (1.1-17.8)	0,37
АЛТ, мЕ/л	12.85 (3.9-50)	16.5 (5.1-93.1)	0,000*

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4
АСТ, мЕ/л	17.7 (5-63.7)	18.6 (10.2-109.9)	0,000*
СРБ, мг/л	1.1 (0-209)	2.25 (0-222.9)	0.82
Общий билирубин, мкмоль/л	7 (2.6-19.77)	6.25 (1.6-28.2)	0,15
Глюкоза ммоль/л	4.96 (1.58-28.39)	4.47 (1.98-15.23)	0,15
Инсулин мМЕ/л	7.9(3.1-53.2)	11.9 (2.1-202.5)	0,04*

* – статистически значимый результат

Примечания:

- Данные представлены в виде М (Q1-Q3).
- Для сравнения медиан использовался знаковый ранговый критерий Уилкоксона

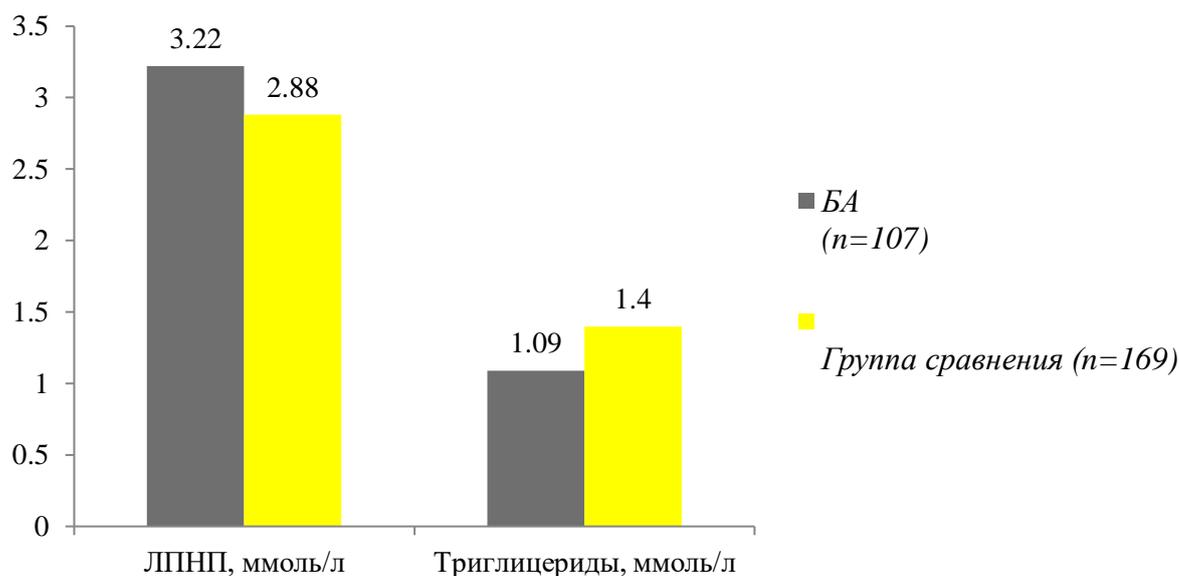


Рисунок 10 - Сравнительная характеристика липидов крови у пациентов с БА и группы сравнения

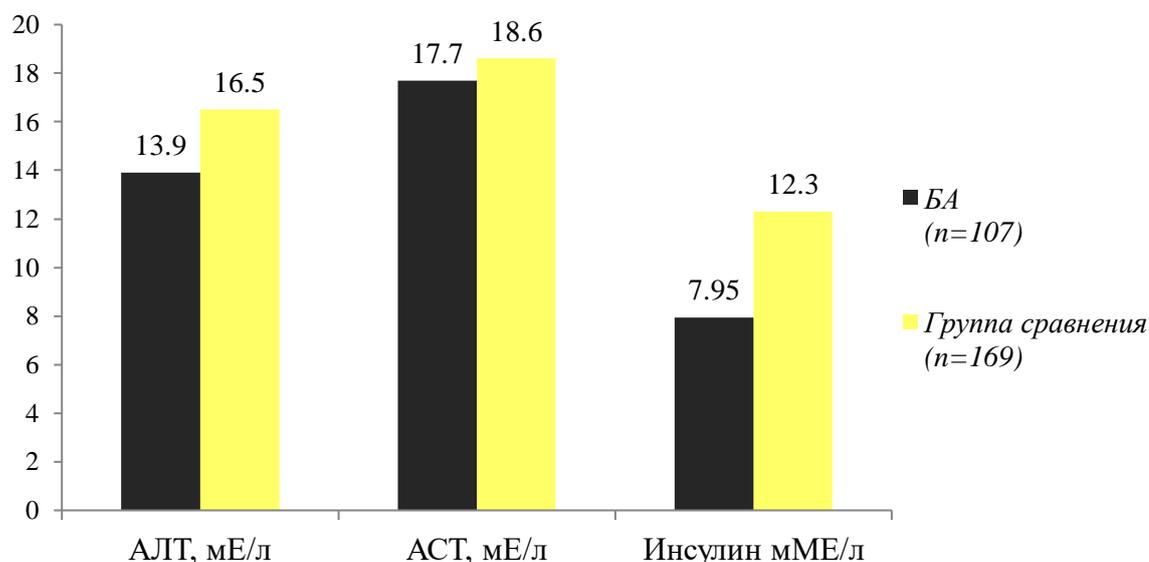


Рисунок 11 - Сравнительная характеристика аминотрансфераз и инсулина в крови у пациентов с БА и группы сравнения

Сравнительный анализ биохимических параметров в крови в зависимости от тяжести заболевания

Для сравнения степеней тяжести БА по биохимическим показателям мы использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Основная группа была разделена на формы заболевания на основании результатов MMSE, где баллы от 0-9 – соответствовали тяжелой степени деменции, от 10-19 – средней степени и от 20-27 – легкой степени деменции. В каждой группе количество участников с БА составило 33 человек в первой, 39 человек во второй и 33 человек в третьей группе. Статистически значимые ($p=0,03$) и ($p=0,03$) различия были выявлены по холестерину и ЛПВП (таблица 4). Медианные значения холестерина были выше в группе со средней формой заболевания и составили 5 ммоль/л, и ниже в группе с тяжелой формой заболевания, где его показатель составил 4,1 ммоль/л, что меньше на 18%. Медианные значения ЛПВП в группе со средней формой БА составили 1,4 ммоль/л, что выше на 40% медианного значения в группе с тяжелой формой БА, где данный показатель составил 1 ммоль/л. Мы предполагаем, что полученные данные могут быть обусловлены участием дислипидемии в процесс прогрессирования когнитивных нарушений при деменции. Учитывая, что полученные значения лабораторных показателей крови находятся в пределах референтного интервала и небольшой объем выборки, сделать однозначный вывод не представляется возможным.

Таблица 4 – Характеристика биохимических показателей в зависимости от формы БА

Параметр	Тяжелая БА, n=33	Средняя БА, n=39	Легкая БА, n=34	p
Глюкоза, ммоль/л	5,2	5,1	5,5	0,8
АЛТ, мЕ/л	14,2	14,7	18,3	0,2
АСТ, мЕ/л	17,7	18,8	19,5	0,7
общий билирубин мколь/л	7,5	8,7	7,5	0,4
СРБ, мг/л	5	3,7	3	0,7
холестерин ммоль/л	4,1	5	4,6	0,03*
ЛПВП, ммоль/л.	1	1,4	1,3	0,02*
ЛПНП, ммоль/л.	2,9	3,4	3,2	0,2
триглицериды, ммоль/л.	1,1	1,2	1	0,4
Индекс атерогенности (ЛПНП/ЛПВП)	3	2,8	2,6	0,3
инсулин, мМЕ/л	12,9	13,1	7,9	0,4
* – статистически значимый результат				
Примечания:				
1. Данные представлены в виде M (Q1-Q3).				
2. Для сравнения медиан использовался знаковый ранговый критерий Уилкоксона				

3.3 Цитокиновый профиль у пациентов с болезнью Альцгеймера

Анализ цитокинов, оцененных у 276 участников исследования

Предыдущие исследования показали связь между изменениями экспрессии цитокинов и развитием БА [256, 257].

Для изучения воспалительных маркеров у пациентов с БА мы измерили концентрацию 41 цитокина и хемокинов в сыворотке крови с помощью мультиплексного анализа у 107 участников группы БА и 169 участников группы сравнения. Процедура измерения цитокинов проводилась в соответствии с протоколом исследования.

Наши результаты показали, что провоспалительные цитокины: IL12p70 ($p=0,02$) и IP10($p=0,04$) имели статистически значимые различия между исследуемыми группами. Медианные значения IL12p70 в группе БА составило 28,4(16-43) пг/мл, что на 65% выше в группе БА по сравнению с группой сравнения, где его значение составило 9,8 (1-24) пг/мл. Медианные значения IP10 в группе БА составило 388 (219-1006) пг/мл, что на 3% выше в группе БА по сравнению с группой сравнения, где это значения составило 378 (142-737) пг/мл. Показатели противовоспалительных цитокинов такие как: FGF2($p=0,0005$), PDGFAA($p=0,006$), PDGF.AB.BB($p=0,002$), sCD40L($p=0,01$), RANTES($p=0,006$) имели статистически значимые различия между группами, соответственно. Медианное значение FGF2 в группе деменции составило 120 (57-165) пг/мл, что ниже на 10% по сравнению с группой сравнения, где его значение составило 132 (68-363) пг/мл. Медианные значения PDGFAA в группе деменции составили 1209 (835-2017) пг/мл, что ниже на 20% по сравнению с группой без когнитивных нарушений, это значение в данной группе составило 1513 (799-3064) пг/мл. Медиана PDGF.AB.BB составило 7387 (5148-11253) пг/мл, что ниже на 20% по сравнению с группой сравнения, где его значение составило 9311 (5923-19090) пг/мл. Медианное значения sCD40L в группе деменции составило 6632 (4984-8695) пг/мл, что ниже на 2% по сравнению с группой сравнения и составило 6752(5027-9997) пг/мл. Также по хемокину RANTES выявлены значимые различия ($p=0,006$) между группами, где его медианное значение составило 1989(995-10547) пг/мл в группе деменции, что ниже на 65% по сравнению с группой сравнения, где его значение составило 4352(1177-19712) пг/мл. Данные представлены в таблице 5 (рисунки 12, 13).

Таблица 5 - Концентрации цитокинов и хемокинов в сыворотке крови, измеренные с помощью MILLIPLEX Map Human Cytokine/Chemokine Magnetic Beas Panel on the Luminex xMAP technology

Цитокины, пг/мл	БА n=107	Группа сравнения n=169	p
1	2	3	4
EGF	148(81-284)	189 (109-318)	0,2
FGF.2	120 (57-165)	132 (68-363)	0,0005 *
Eotaxin	189 (118-300)	179 (117-282)	0,6
TGF.a	4 (2,4-8,2)	4,6 (2,8-9,4)	0,1
G.CSF	12,8 (0-36,7)	4,5(0-25,3)	0,6
Flt.3L	120,4 (19-218)	122,8 (31-367)	0,5
IFNa2	23 (0-42)	19,4 (0-49)	0,2
IFN.γ	3,4 (0-190)	2,6 (0-34)	0,2
GRO	1994 (1361-2576)	1931 (1317-3259)	0,1
IL.10	11 (2-25)	4,5 (1-14)	0,4
MCP.3	68,7 (27-150)	64(27-104)	0,2

Продолжение таблицы 5

1	2	3	4
IL.12p40	9,2 (2-31)	9,4(1-27)	0,8
MDC	932 (580-1542)	808(461-1564)	0,2
IL.12p70	28,4(16-43)	9,8 (1-24)	0,02
PDGF.AA	1209 (835-2017)	1513 (799-3064)	0,006 *
IL.13	2,3 (1-26)	1,4 (0-24)	0,6
PDGF.AB.BB	7387 (5148-11253)	9311 (5923-19090)	0,002 *
IL.15	1,9 (0-10)	0,4 (0-2)	0,1
sCD40L	6632 (4984-8695)	6752 (5027-9997)	0,01 *
IL.17A	1 (0-2)	0,3 (0-1)	0,7
IL.1RA	14,5 (2-41)	18,8 (4-45)	0,3
IL.1a	10,4 (5-29)	3,4 (0-17)	0,9
IL.9	0,8 (0-4)	0,3 (0-1)	0,8
IL.1b	0,5 (0-10)	0,5 (0-3)	0,2
IL.2	0,3 (0-9)	0,1 (0-1)	0,2
IL.3	0,5 (0 - 2)	0,5 (0,06 – 0,6)	0,07
IL.4	16,7 (1-65)	9 (0-110)	0,6
IL.5	0,8 (0-7)	1,8 (0-3)	0,5
IL.6	1,4 (0-18)	0 (0-8)	0,2
IL.7	5 (1-36)	3 (0-22)	0,6
IL.8	33 (14-60)	48 (32-181)	0,08
IP.10	388 (219-1006)	378 (142-737)	0,04 *
MCP.1	635 (426-1210)	579 (324-1010)	0,2
MIP.1a	0 (0-16)	7,6 (0-32)	0,7
MIP.1b	48 (24-75)	47 (28-85)	0,3
RANTES	1989 (995-10547)	4352 (1177-19712)	0,006 *
TNF.a	22,6 (10,6-47)	21 (9-35)	0,4
TNF.b	12,8 (0,04-26,7)	1,4 (0-24)	0,8
VEGF	44(0-125)	1,4 (0-24)	0,8
GM.CSF	11,4 (1,3-27,6)	6,3 (3-17)	0,3
Fractalkine	120,4 (19-218)	122,8 (31-367)	0,5

* – статистически значимый результат

Примечания:

1. Данные представлены в виде М (Q1-Q3).

2. Для сравнения медиан использовался знаковый ранговый критерий Уилкоксона

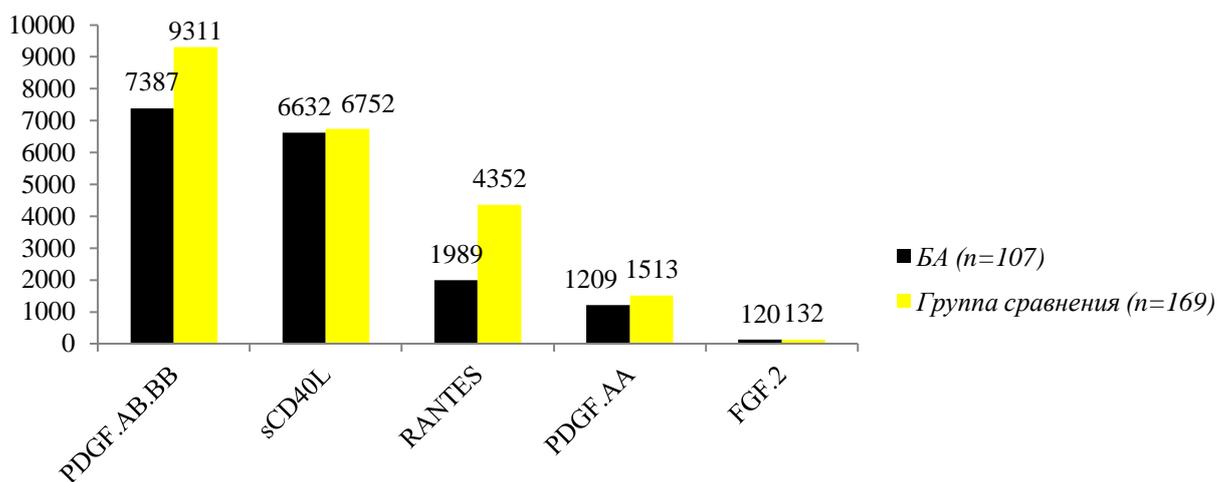


Рисунок 12 – Сравнительная характеристика концентраций противовоспалительных цитокинов у пациентов с БА и группы сравнения

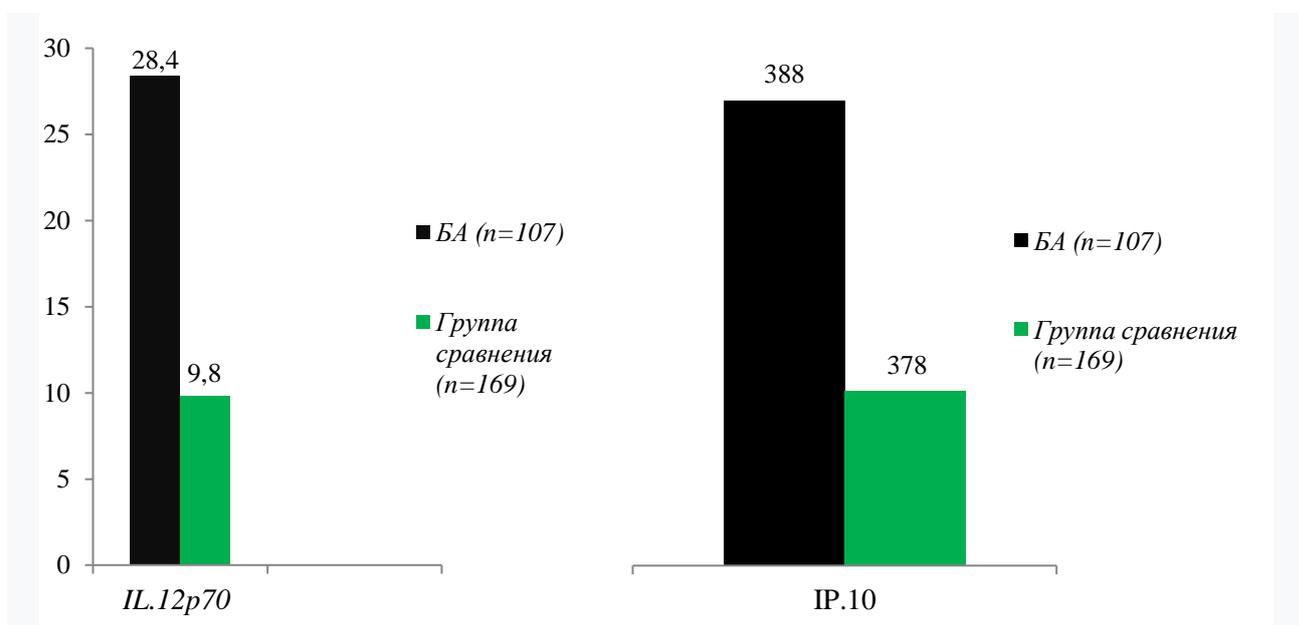


Рисунок 13 – Сравнительная характеристика концентраций провоспалительных цитокинов у пациентов с БА и группой сравнения

Таким образом, цитокиновый профиль у пациентов в группе БА характеризуется снижением противовоспалительных цитокинов и увеличением провоспалительных цитокинов, что свидетельствует о нарушении иммунного статуса.

Для оценки цитокинового профиля в крови пациентов с различной формой БА, мы использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Полученные результаты демонстрируют отсутствие статистически значимых ($p < 0,05$) различий между группами БА (таблица 6). Таким образом, мы можем предположить, что цитокиновый профиль в нашей выборке не отражает прогрессирования когнитивных нарушений и/или его участие в данном процессе.

Таблица 6 – Характеристика цитокинов крови в зависимости от тяжести БА

Цитокины, пг/мл	Тяжелая БА, n=33	Средняя БА, n=39	Легкая БА, n=33	P
EGF	216	236	246	0.8
FGF2	130	152	113	0.5
Eotaxin	261	199	296	0.2
TGF.a	5,2	7.3	6.7	0.3
G.CSF	28,5	48.5	88.5	0.3
Flt.3L	35,5	56	64	0.3
GM.CSF	10	16.2	15.3	0.1
Fractalkine	198	207	316	0.6
IFNa2	17,6	47	27	0.07
IFN γ	45	92	75	0.2
GRO	2694	2341	2306	0.6
IL.10	12	63	14	0.4
MCP.3	98,5	106	115	0.8
IL.12p40	16,7	22	24	0.6
MDC	1392	1356	1417	0.9
IL.12p70	23	32	33	0.2
PDGF.AA	1459	1802	1764	0.5
IL.13	8,6	14	18	0.5
PDGF.AB.BB	11278	9975	10151	0.8
IL.15	3,3	7.4	6	0.08
sCD40L	6306	6958	7914	0.2
IL.17A	1	4	2	0.06
IL.1RA	30	43	18	0.2
IL.1a	33,5	29	49	0.2
IL.9	3,9	6.8	6.8	0.6
IL.1b	6,8	5	3.6	0.3
IL.2	1,7	4.3	3.8	0.09
IL.3	1	2.3	2.1	0.09
IL.4	109	113	186	0.07
IL.5	4	2.4	3	0.4
IL.6	22,6	20	12	0.7
IL.7	13	24	19.5	0.2
IL.8	157	152	74	0.5
IP.10	1537	569	1078	0.1
MCP.1	1020	935	979	0.9
MIP.1a	129	82	321	0.6
MIP.1b	147	134	61	0.4
RANTES	4553	8219	9788	0.09
TNF.a	56,6	39	32	0.2
TNF.b	20	23	42	0.5
VEGF	234	127	107	0.5

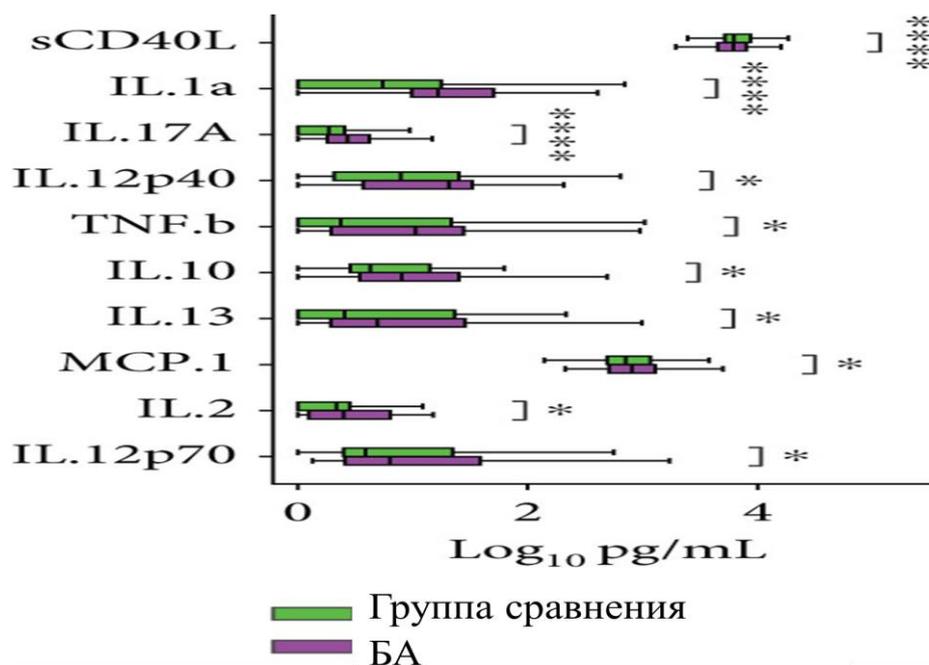
Примечания:

1. Данные представлены в виде M (Q1-Q3).
2. Для сравнения медиан использовался знаковый ранговый критерий Уилкоксона

Анализ цитокинов, оцененных у 83 участников исследования

Результаты измерения концентрации 41 цитокина и хемокинов в сыворотке крови с помощью мультиплексного анализа у 41 пациента с БА и 43 участников группы сравнения

Сравнение уровней продукции про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови показало значительное увеличение экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 α , IL-17A, IL-12p40, TNF- β , MCP-1, IL-2, IL12p70 и истощение sCD40L и сверхэкспрессия противовоспалительных цитокинов IL-10, IL-13 у пациентов с БА (рисунок 14).



А – уровни цитокинов различаются между группой БА (фиолетовый) и группой сравнения (зеленый), (U-критерий Манна-Уитни, FDR, $p < 0,05$)

Рисунок 14 – Профили экспрессии цитокинов у пациентов с БА и группой сравнения

3.4 Ключевые переменные, связанные с болезнью Альцгеймера

На рисунках 15, 16, 17 показаны ключевые переменные, отличающие пациентов с БА от группы сравнения в модели GBDT. Маркеры воспаления, такие как IL-1a и IL-8 (рисунок 15), являются одними из наиболее важных дискриминаторов, наряду с другими факторами, такими как ЛПНП, ЭФР, ИМТ и микробные таксоны. Используя анализ главных компонентов важных переменных-дискриминаторов на рисунке 16, показано, что группы БА и группа сравнения разделяются по разным направлениям отклонения. Модель GBDT с этими важными функциями обеспечивает высокую степень дискриминации между БА и элементами управления (IF AUC=0,96), что лучше, чем при использовании всех функций (LOO AUC=0,91). Ключевые переменные, определяющие разделение БА и группы сравнения, включают маркеры воспаления (IL-1a, IL-8), факторы роста (EGF), липиды (ЛПНП), ИМТ

и кишечные микробы, такие как род *Tyzzarella* и *Turicibacter*, а также виды *Parabacteroides distasonis* и *Bacteroides. eggerthii* (рисунок 17).

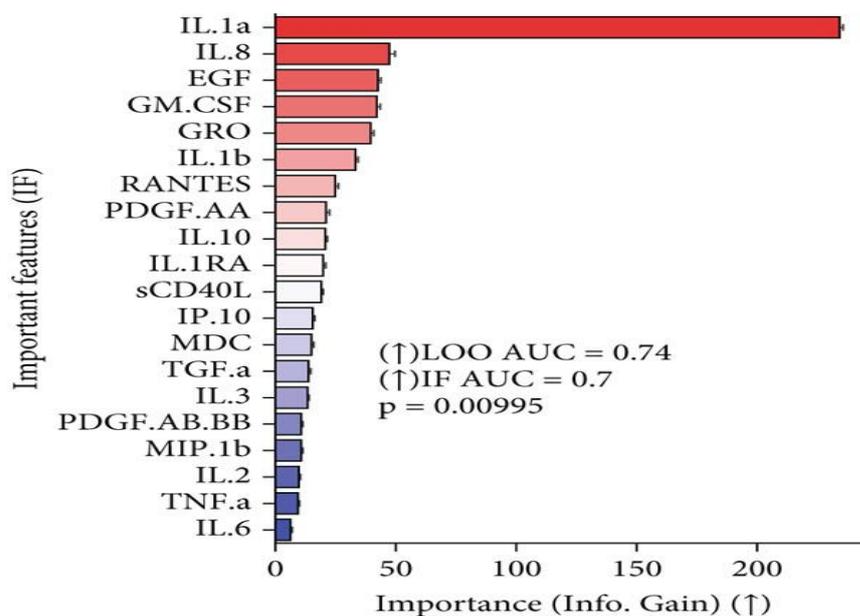


Рисунок 15 – Анализ важности признаков для различения пациентов с болезнью Альцгеймера (БА) и элементов управления: на шкале важности показаны 20 наиболее важных маркеров воспаления в крови, вверху дискриминаторов между группой БА и группой сравнения

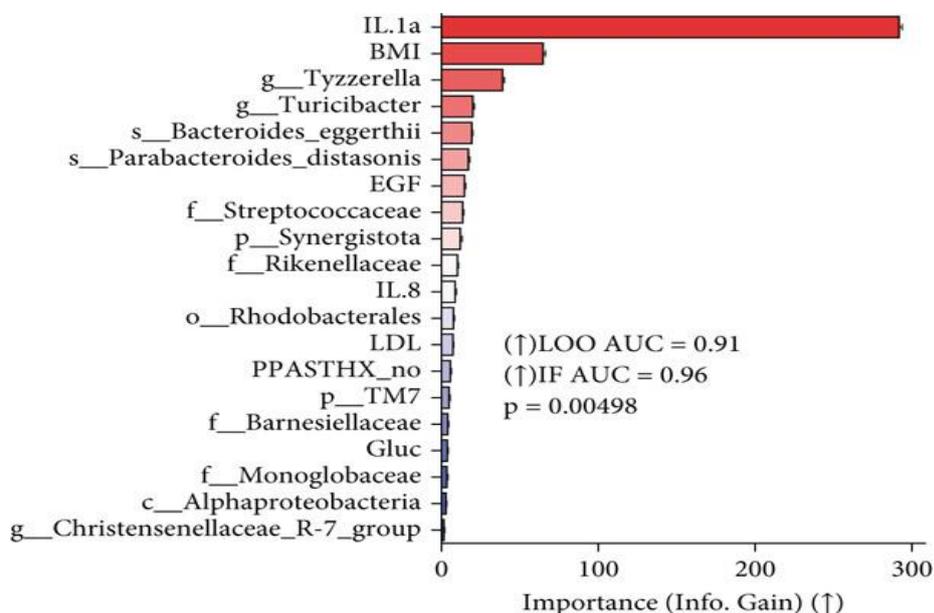


Рисунок 16 - Анализ важности признаков для различения пациентов с болезнью Альцгеймера (БА) и элементов управления: на шкале важности показаны 20 лучших дискриминаторов между группой БА и группой сравнения; горизонтальная ось представляет измеренный эффект признак дискриминации («важности»)

Примечание – Названия функций, ранжированные по важности (↑), показаны на вертикальная ось

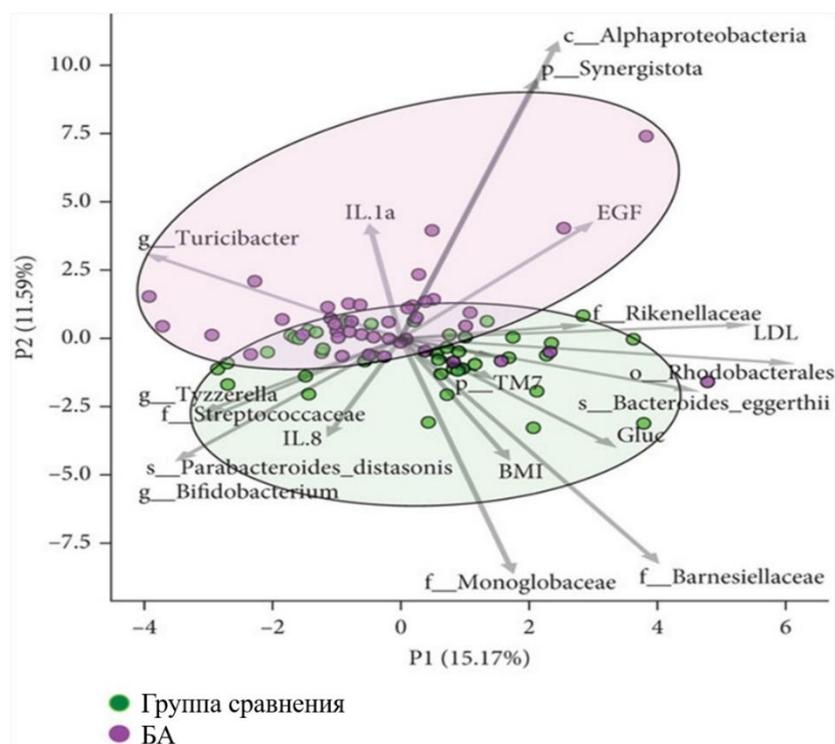


Рисунок 17 – Анализ важности признаков для различения пациентов с БА и элементов управления: ординация анализа главных компонент (PCA) на основе наиболее важного показателя Z для нормализованных дискриминационных признаков

Примечания:

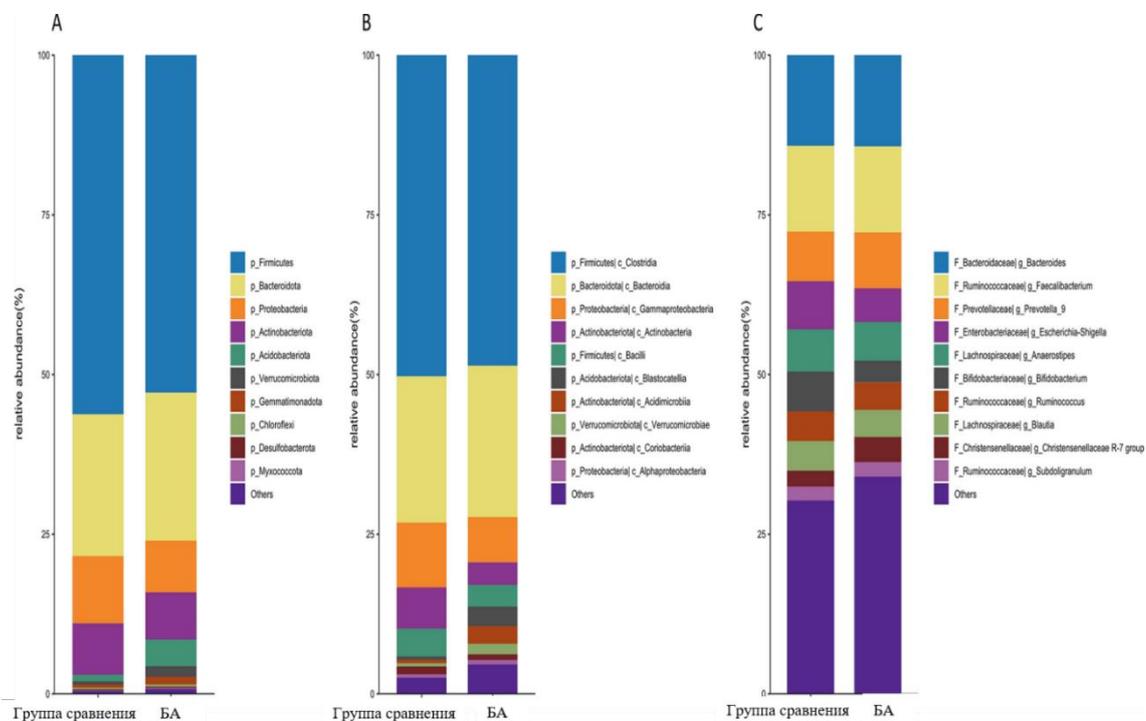
1. Нагрузка PCA показаны стрелками; длина стрелки указывает на относительное влияние объекта на ординацию, а его угол указывает направление эффекта.
2. Особенность анализа важности был выполнен с использованием алгоритма деревьев решений градиентного повышения (GBDT) соценка производительности с использованием перекрестной проверки с исключением одного (LOO) с областью под точным отзывом.
3. Значимость результатов, основанная на выявленных важных признаков (IF) оценивали с помощью теста важности перестановок с 9999 перестановками

3.5 Состав микробиоценоза кишечника у пациентов с болезнью Альцгеймера

3.5.1 Анализ фекальной микробиоты

Для анализа микробиома кишечника пациентов с болезнью Альцгеймера (БА) было проведено секвенирование V1 локуса гена 16S рРНК. ДНК была выделена из образцов кала 41 пациента с БА и 43 участников контрольной группы без когнитивных нарушений. Анализ композиционного состава и разнообразия бактериальных таксонов на уровнях от типа до вида выявил ряд значимых закономерностей. Эти результаты согласуются с данными Vogt et al., которые также отметили доминирование этих типов в обеих группах [190, p. 13537-1-13537-10]. В обеих группах преобладали Firmicutes, Bacteroidota, Proteobacteria и Actinobacteriota (рисунок 18А). Преобладающими бактериями в обеих группах были Clostridia, Bacteroidia и Gammaproteobacteria (рисунок 18В). Однако в группе БА наблюдалась значительно более высокая

численность *Acidobacteriota* ($p < 0,001$), *Latescibacterota* ($p = 0,036$), *Verrucomicrobiota* ($p = 0,0149$), *Synergistota* ($p = 0,0033$), *Planctomycetota* ($p = 0,0292$) и *Zixibacteria* ($p = 0,0678$) по сравнению с контрольной группой (рисунок 19). Увеличение *Verrucomicrobia* у пациентов с БА также отмечено и другими исследователями [221, р. 731-735].



Группа сравнения (лица без когнитивных нарушений), БА (лица с БА). (А) уровень типа, (В) уровень класса, (С) уровень рода

Рисунок 18 – Относительное обилие типов бактерий в образцах стула

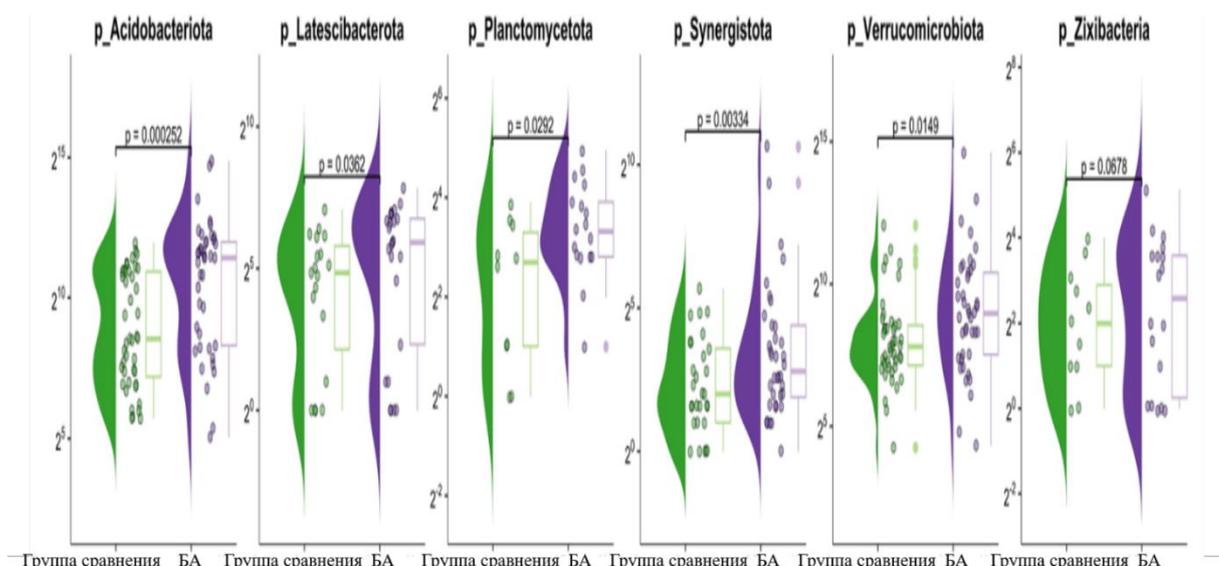


Рисунок 19 - Скрипичные графики дифференциально распространенных таксонов между БА и группой сравнения

В группе БА наблюдалось снижение количества Actinobacteria ($p=0,0159$) и увеличение Blastocatellia ($p=0,0001$), Synergistia ($p=0,0033$), Vicinamibacteria ($p=0,0139$), линии Pl4 ($p=0,0322$) и Phycisphaerae ($p=0,0037$) по сравнению с контрольной группой (рисунок 20).

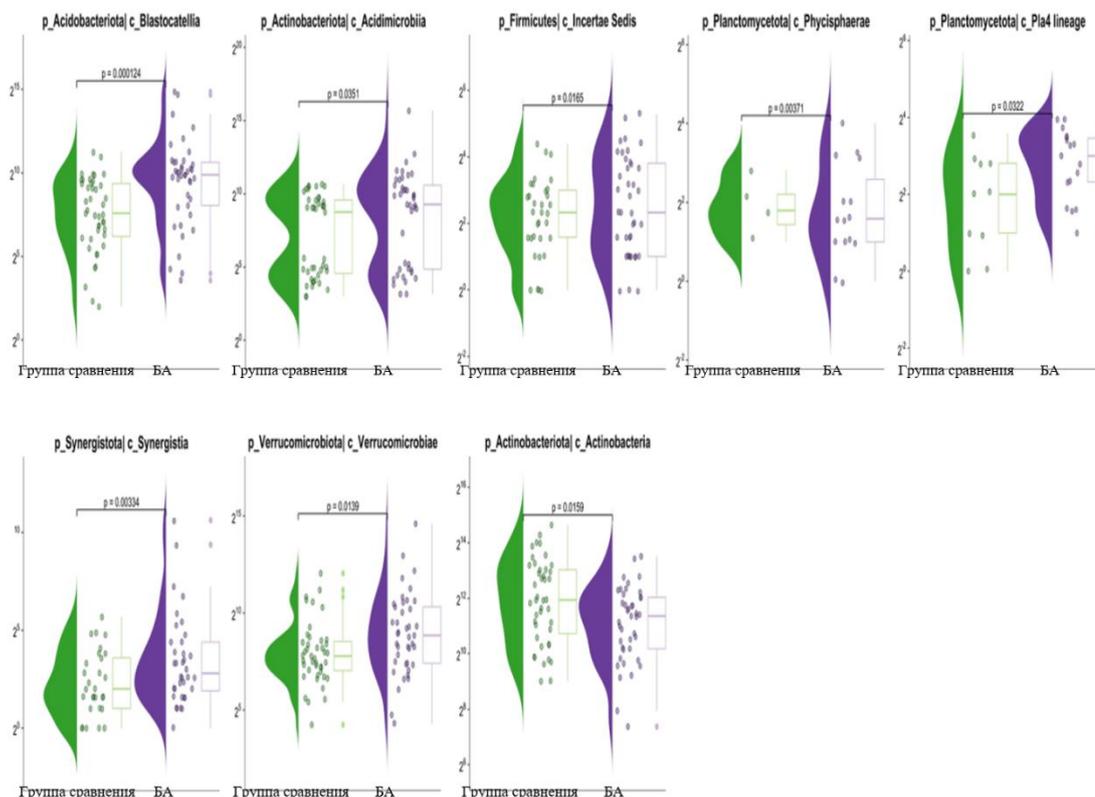


Рисунок 20 - Скрипичные графики дифференциально распространенных таксонов между БА и группой сравнения

У пациентов с БА отмечено снижение относительной численности Bifidobacterium ($p=0,0204$), некультивируемых бактерий Clostridia ($p=0,0264$), Castellaniella ($p=0,0019$), Erysipelotrichaceae UCG-003 ($p=0,0066$), Roseburia ($p=0,0098$), Tuzzerella ($p=0,0038$), родов семейства Lactobacillaceae (Lactiplantibacillus, Latilactobacillus, Levilactobacillus, $p<0,05$) и Monoglobus ($p=0,0019$) (рисунок 21). Снижение Bifidobacterium и Lactobacillus у пациентов с БА также продемонстрировано в работе Zhuang et al. [205, p. 1337-1345]. При этом наблюдалось обогащение таксонами Akkermansia ($p=0,0197$), Niastella ($p=0,0326$), Oxalobacter ($p=0,024$), Prevotella ($p=0,045$) и Flavobacterium ($p=0,0469$) (рисунок 22). Эти данные противоречат некоторым предыдущим исследованиям, таким как Nagan et al., что может быть связано с различиями в методологии или характеристиках популяции.

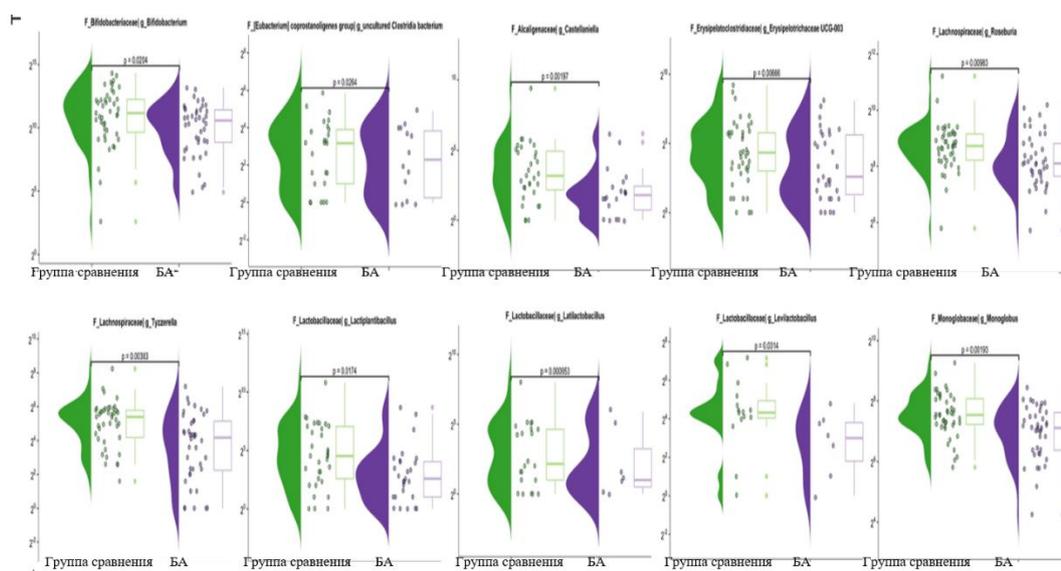


Рисунок 21 – Скрипичные графики дифференциально распространенных таксонов между БА и группой сравнения

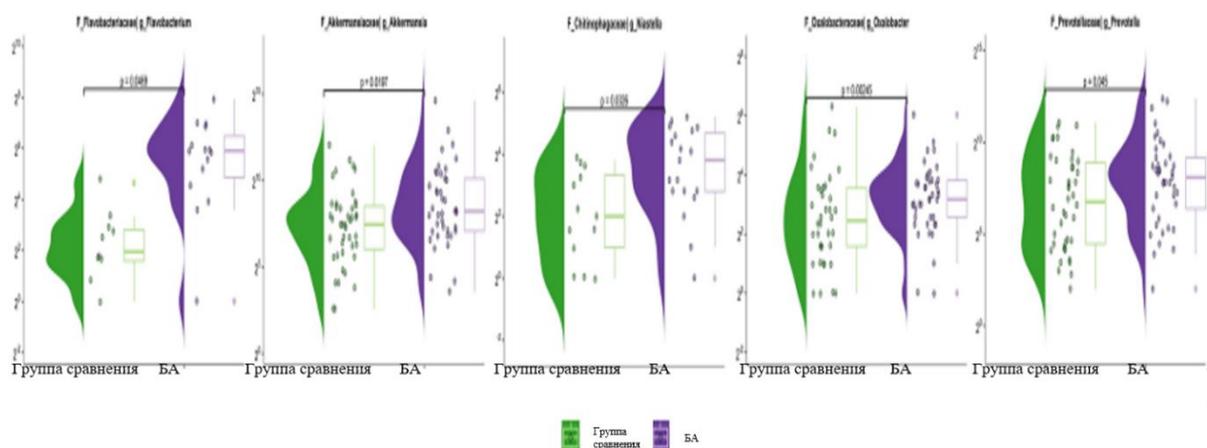


Рисунок 22 – Скрипичные графики дифференциально распространенных таксонов между БА и группой сравнения

Анализ α -разнообразия с использованием индексов Шеннона, Симпсона, Chao1, Observed, ACE и Фишера не выявил существенных различий между группами (рисунок 23). Анализ β -разнообразия методом PCoA с использованием взвешенного расстояния UniFrac и данных, преобразованных по методу Хеллингера, также не показал значимой групповой сегрегации ($p=0,2313$, $R^2=0,011$) (рисунок 24). Эти результаты совпадают с ранее опубликованными данными в высокорейтинговых журналах.

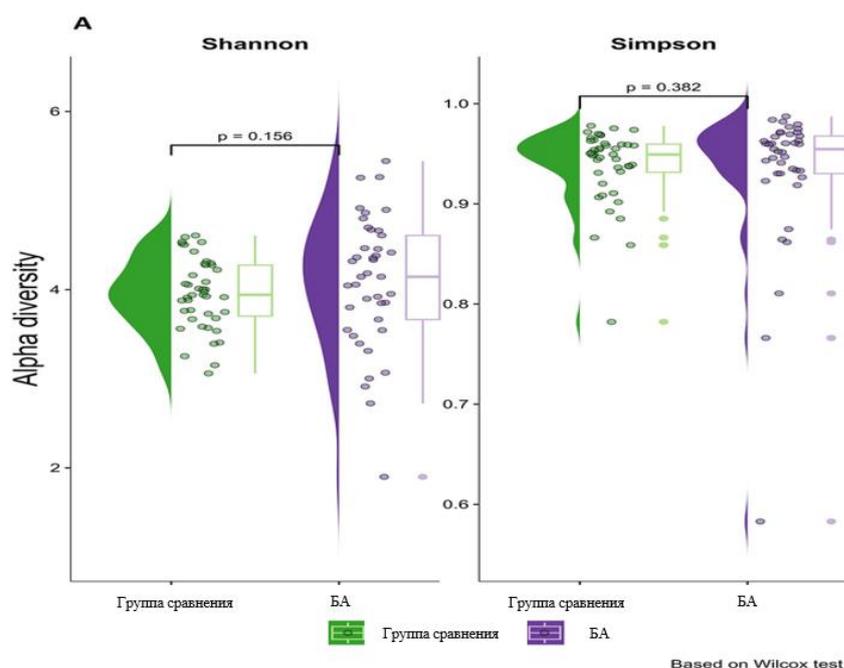


Рисунок 23 – α -разнообразие (индексы Шеннона, Симпсона) фекальных бактерий у лиц с БА и в группе сравнения

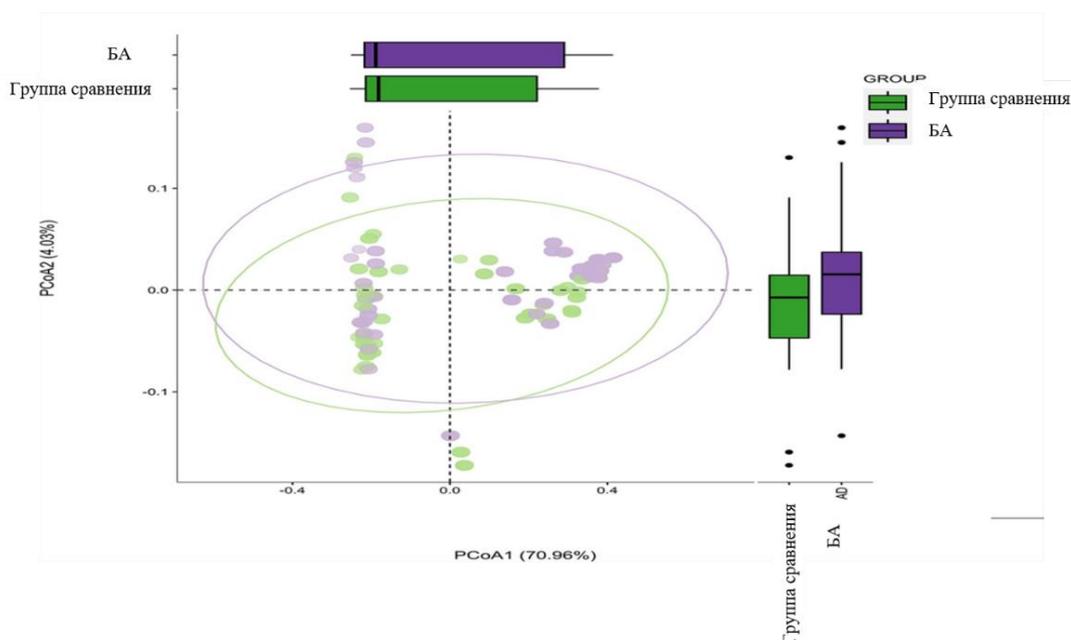


Рисунок 24 – β -разнообразие (взвешенное расстояние UniFrac) фекальных бактерий у людей с болезнью Альцгеймера и у лиц без когнитивных нарушений

Анализ дифференциальной представленности таксонов методом LefSe выявил обогащение родов Christensenellaceae R-7 группы, Prevotella, Alloprevotella, Bifidobacterium (OTE140), группы Eubacterium coprostanoligenes, Ruminococcus, Flavobacterium, Ohtaekwangia, Akkermansia и Bacteroides sp. Marseille-P3166 у пациентов с БА. Напротив, роды Levilactobacillus, Lactiplantibacillus, Tyzzerella, группа Eubacterium siraeum, Monoglobus, Bacteroides, Erysipelotrichaceae UCG-003, Veillonella, Faecalibacterium, Roseburia

и *Haemophilus* были истощены (рисунок 25). Истощение *Faecalibacterium* и *Roseburia*, совпадает с данными Zhuang et al. [205, p. 1337-1345] и может указывать на снижение продукции короткоцепочечных жирных кислот у пациентов с БА.

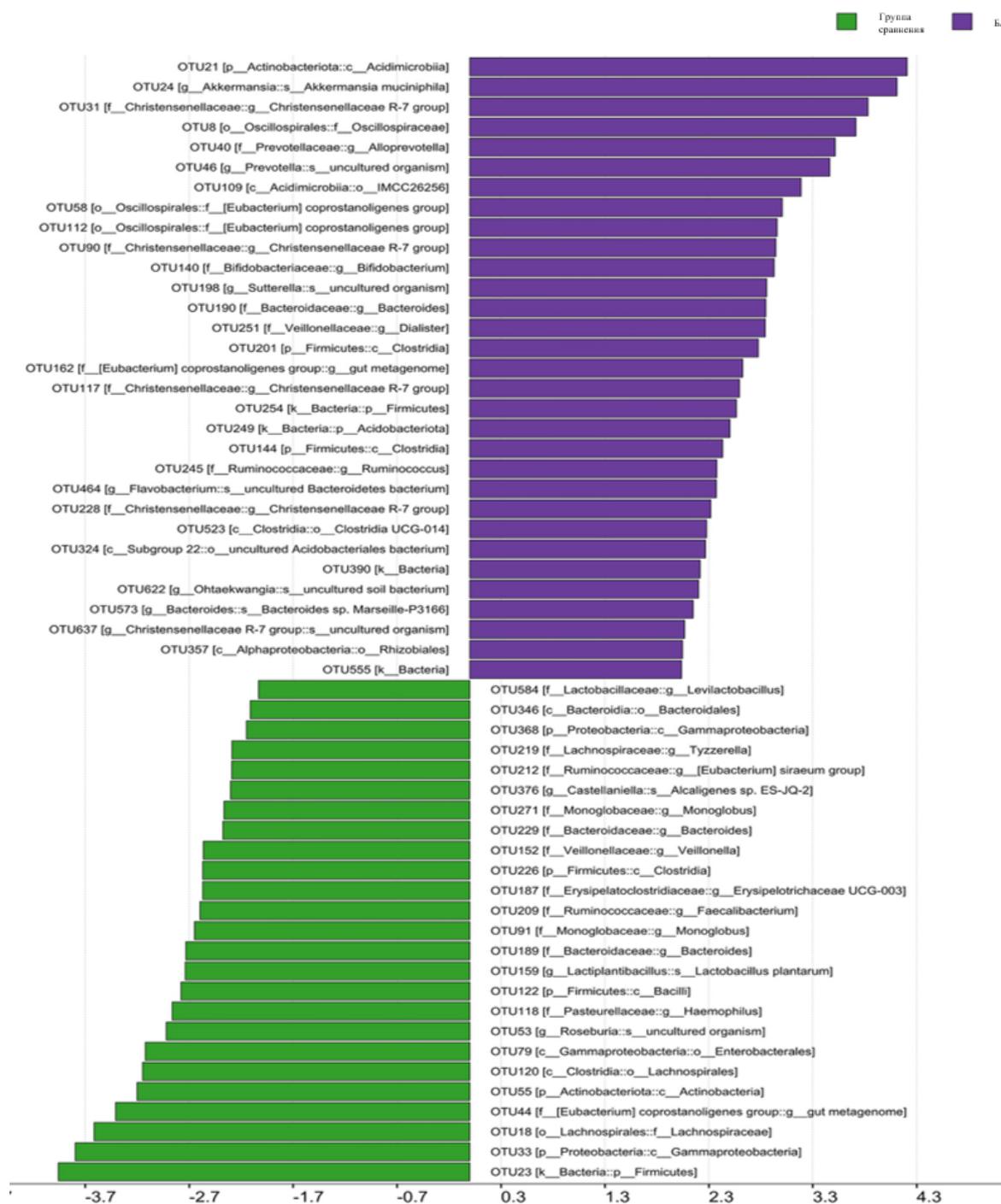


Рисунок 25 - Результаты линейного дискриминантного анализа (график LEfse)

Примечание – Показатель линейного дискриминантного анализа (логарифм 10) $>$ 2 указывает на значительно различное обогащение таксонов бактерий в группе БА (фиолетовый) по сравнению с группой сравнения (зеленый) тип р, класс с, порядок о, семейство f, род g, вид s

Сравнительный анализ методами LefSe и MaaSlin2 выявил согласованный список таксонов, уменьшенных в группе БА: Faecalibacterium (OTE209), Monoglobus (OTE271), группа Eubacterium siraeum (OTE212), Bacteroides (OTE229) и Gammaproteobacteria (OTE33) (таблица 7).

Таблица 7 - Сравнение данных, полученных двумя разными методами (LefSe и MaaSlin2)

LefSe	Обогащенные группы	ef_lda	p	MaaSlin2		coef	stderr	p
OTU209	Группа сравнения	-2,710834802	0,00015	OTU209	БА против группы сравнения	2,275867	0,581956610 624446	0,000191872 974181979
OTU212		-2,257040831	0,00193	OTU212		1,12889	0,305778587 796202	0,000405130 651818633
OTU229		-2,445163954	0,00336	OTU229		2,37339	0,65119330938 6514	0,00047434831 0813908
OTU271		-2,274674991	0,00041	OTU271		2,38288	0,657356977 922158	0,000506522 747840151
OTU33		-3,6577035405	0,00238	OTU33		1,990779	0,52551049190 0364	0,00029238711 9129955

Несмотря на отсутствие значимых различий в α - и β -разнообразии между группами, наше исследование выявило ряд таксономических различий в составе микробиома кишечника пациентов с БА. Противоречивые результаты по бифидобактериям (снижение на уровне рода и увеличение OTE140) могут быть обусловлены видоспецифическими изменениями и требуют дальнейшего изучения. Наше исследование предоставляет новые данные о различиях в составе микробиома кишечника у пациентов с БА. Хотя некоторые результаты согласуются с предыдущими исследованиями, мы также обнаружили новые

закономерности, которые требуют дальнейшего изучения. Ограничением нашего исследования является относительно небольшой размер выборки, что подчеркивает необходимость проведения крупномасштабных исследований для подтверждения и расширения полученных результатов.

3.5.2 Корреляции между сообществом кишечной микробиоты и тяжестью заболевания

Корреляция между сообществом кишечной микробиоты и тяжестью заболевания

На основании результатов MMSE была определена тяжесть заболевания у пациентов с БА, где результаты MMSE (0-9) соответствовали тяжелой форме, а MMSE (10-19) соответствовали средней форме заболевания. Проведен корреляционный анализ между тяжестью заболевания и кишечной микробиотой.

Таблица 8 – Корреляция между сообществом кишечной микробиоты и тяжестью заболевания

Кишечный таксон	БА, тяжесть заболевания	Коэффициент корреляции	p
OTE3880 Bacteroidota Bacteroidia Bacteroidales Bacteroidaceae Bacteroides	средняя	0.9195947425	0.0006580
OTE 903Methylomirabilota	средняя	2.2904075747	0.00117106
OTE 2480Firmicutes Clostridia Oscillspirales Ruminococcaceae некульт.Clostridiales bacterium	средняя	-1.1739540487	0.00391347
OTE726 Bacteroidota Bacteroidia Bacteroidales Prevotellaceae	средняя	1.5297039437	0.004686367
OTE406 Firmicutes Clostridia vadin BB60 group	тяжелая	-3.136219098	0.000568106
OTE1726 Firmicutes Clostridia ChristensenellalesChristensenellaceae R-7	тяжелая	-1.515068813	0.000708920
OTE530 Firmicutes Symbiobacteriia Symbiobacteriales	тяжелая	-2.486096637	0.002380031
OTE1452 Firmicutes ClostridiaChristensenellales Christensenellaceae R-7	тяжелая	1.6355098541	0.002406551
OTE3544 Acidobacteriota подгруппа 22 некультивируемый протеобактериум	тяжелая	0.8208732322	0.002566899
OTE2030 Actinobacteriota Coriobacteriia Collinsella	тяжелая	-1.304539562	0.002997669
OTE300 Chloroflexi Anaerolineae Caldilineales	тяжелая	-2.093901198	0.003586687
OTE3172 Latescibacterota некультивируемая прокариота	тяжелая	0.9035060434	0,004003192
OTE5211 Elucimicrobiota Lineage некультивируемы археи	тяжелая	0.4828665088	0.004248921

В соответствии с таблицей 8, корреляционный анализ выявил специфические ассоциации между тяжестью БА и определенными таксонами кишечной микробиоты. Средняя тяжесть БА (MMSE 10-19) была ассоциирована с *Bacteroides* (OTU 3880); *Methylomirabilota* (OTU 903); некультивируемые бактерии *Clostridiales* (OTU 2480); *Prevotellaceae* (OTU 726). Тяжелая форма БА (MMSE 0-9) коррелировала с *Symbiobacteraceae* (OTU 530); некультивируемые протеобактерии (OTU 3544); *Clostridia vadin BB60* группа (OTU 406); *Collinsella* (OTU 2030); *Caldilineales* (OTU 300); некультивируемые прокариоты *Latescibacterota* (OTU 3172); некультивируемые археи *Elusimicrobiota Lineage Ib* (OTU 5211); группа *Christensenellaceae R-7*; некультивируемые бактерии *Clostridia* (OTU 1726); *gut_metagenome* (OTU 1452).

Наши результаты демонстрируют наличие специфических ассоциаций между тяжестью БА и определенными таксонами кишечной микробиоты. Это согласуется с недавними исследованиями, предполагающими связь между прогрессированием БА и изменениями в составе микробиома кишечника [258, 259]. Особый интерес представляет корреляция тяжелой формы БА с большим количеством некультивируемых бактерий и архей. Это может указывать на увеличение разнообразия микробиома при прогрессировании заболевания, что соответствует гипотезе о роли микробного дисбиоза в патогенезе БА [260]. Ассоциация группы *Christensenellaceae R-7* с тяжелой формой БА заслуживает отдельного внимания, так как этот таксон ранее был связан с долголетием и метаболическим здоровьем [261]. Его присутствие у пациентов с тяжелой формой БА может отражать компенсаторные механизмы организма.

3.5.3 Метаболические изменения в бактериальных популяциях

Анализ метагеномных метаболических путей был проведен на основе данных секвенирования с использованием базы данных PICRUSt2 MetaCyc. Для выявления значимых различий между группой БА и контрольной группой были применены парные сравнения с использованием t-критерия или U-критерия Манна-Уитни (в зависимости от распределения данных). Уровень значимости был установлен как $p < 0,05$ с поправкой на множественные сравнения (FDR). Дополнительно были рассчитаны доверительные интервалы (CI) для оценки величины эффекта.

В результате анализа были выявлены 34 метаболических пути с достоверно различной относительной численностью между группами (рисунок 26). В группе БА наблюдалось повышенное представительство путей, связанных с биосинтезом сахаров, биосинтезом переносчика тетрапиррола, биосинтезом пиримидина и процессингом нуклеиновых кислот. В контрольной группе было отмечено более высокое представительство путей, связанных с ферментацией короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), метаболизмом углеводов, метаболизмом полисахаридов, метаболизмом полиаминов и деградацией мио-инозитола.

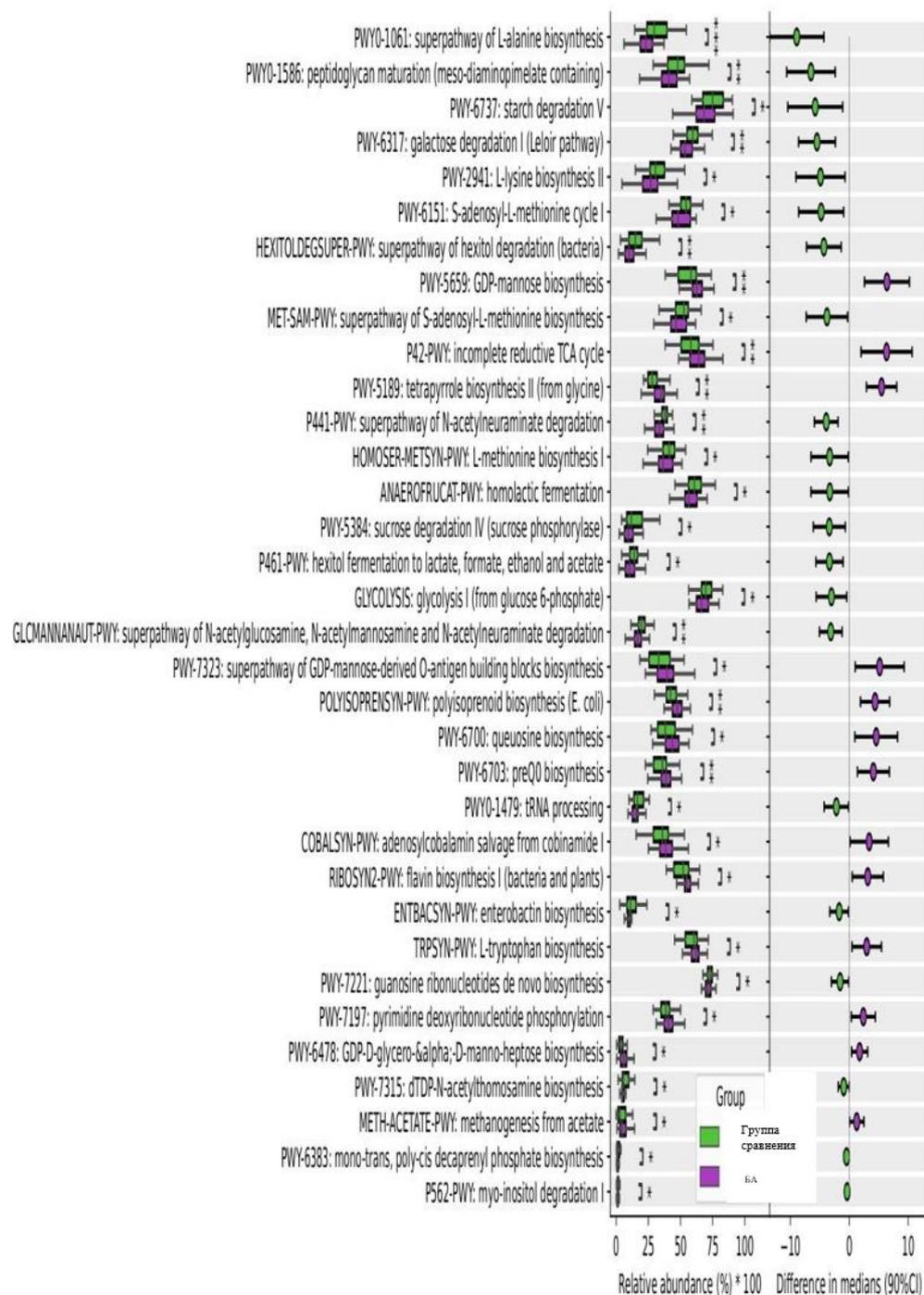


Рисунок 26 - Расширенные гистограммы ошибок, показывающие функциональные свойства, которые различаются между группой сравнения и БА, кишечных микробиомов (Т-тест или U- критерий Манна-Уитни, FDR, $p < 0,05$, отсутствие перекрытия 90% ДИ для различий между медиан)

Примечания:

1. Слева показано относительное обилие метаболических особенностей на основе численности кишечного микробиома, а правая часть визуализирует разницу в медианной численности между группами для каждой функции.
2. Фиолетовый указывает на группу БА; зеленый – группу сравнения. Независимый Т –тест, Т-Уэлча или U – тест Манна-Уитни, где это возможно. FDR, $p < 0,05$, 90% ДИ для различия между медианами, построенными по методу Ходжеса – Лемана. Относительная численность в масштабе (умножается на 100)

Выявленные различия в метаболических путях между группами БА и контроля могут иметь важное значение для понимания патогенеза заболевания и разработки новых терапевтических подходов. Повышенная активность путей биосинтеза сахаров и пиримидинов в группе БА может указывать на изменения в энергетическом метаболизме и синтезе нуклеотидов у пациентов с БА. Это согласуется с данными Sochocka et al., которые предполагают нарушение энергетического обмена при БА [152, p. 1841-1850]. Особого внимания заслуживает снижение активности путей ферментации КЦЖК в группе БА. КЦЖК, такие как бутират, пропионат и ацетат, играют важную роль в поддержании целостности кишечного барьера и обладают противовоспалительными свойствами [262]. Снижение их продукции может способствовать развитию воспаления и нарушению кишечного барьера, что потенциально связано с патогенезом БА [34, p. 388-404]. Изменения в метаболизме полиаминов и мио-инозитола у пациентов с БА также представляют интерес, учитывая их роль в нейропротекции и нейропластичности [263, 264].

Напротив, в группе сравнения наблюдалось большее представительство в таких путях, как ферментация короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), углеводы, полисахариды, полиамины и деградация мио-инозитола.

3.6 Анализ взаимосвязи между кишечной микробиотой и лабораторными показателями

3.6.1 Корреляции между сообществом кишечной микробиоты и биохимическими показателями крови

Для выявления потенциальных взаимосвязей между системными метаболическими параметрами и составом кишечной микробиоты при БА мы провели корреляционный анализ между лабораторными показателями крови и таксономическим составом микробиома у пациентов с БА и пожилых лиц без когнитивных нарушений.

В группе пациентов с БА были выявлены значимые отрицательная корреляция уровня общего билирубина с *Christensenellaceae* R-7 (OTU117) и *Acidobacteriota* (OTU249), отрицательная корреляция уровня СРБ с *Firmicutes* (OTU254), *Acidobacteriales* (OTU324), *unclassified* (OTU555), *Castellaniella alcaligenes* (OTU376), *Lachnospiraceae* (OTU18), положительная корреляция СРБ с *Christensenellaceae* R-7 (OTU228) и *Klebsiella pneumoniae* (OTU585).

В контрольной группе обнаружены положительная корреляция уровня билирубина с *Castellaniella alcaligenes* (OTU376) и *Ohtaekwangia* (OTU622), уровень триглицеридов положительно коррелирует с *Acidimicrobiia* (OTU109) и *Bifidobacterium* (OTU140), и отрицательно коррелирует с *Alloprevotella* (OTU40) и *Monoglobus* (OTU271) (рисунок 27).

Выявленные корреляции между лабораторными показателями крови и составом микробиоты кишечника указывают на потенциальные взаимосвязи между системным метаболизмом и микробиомом при БА.

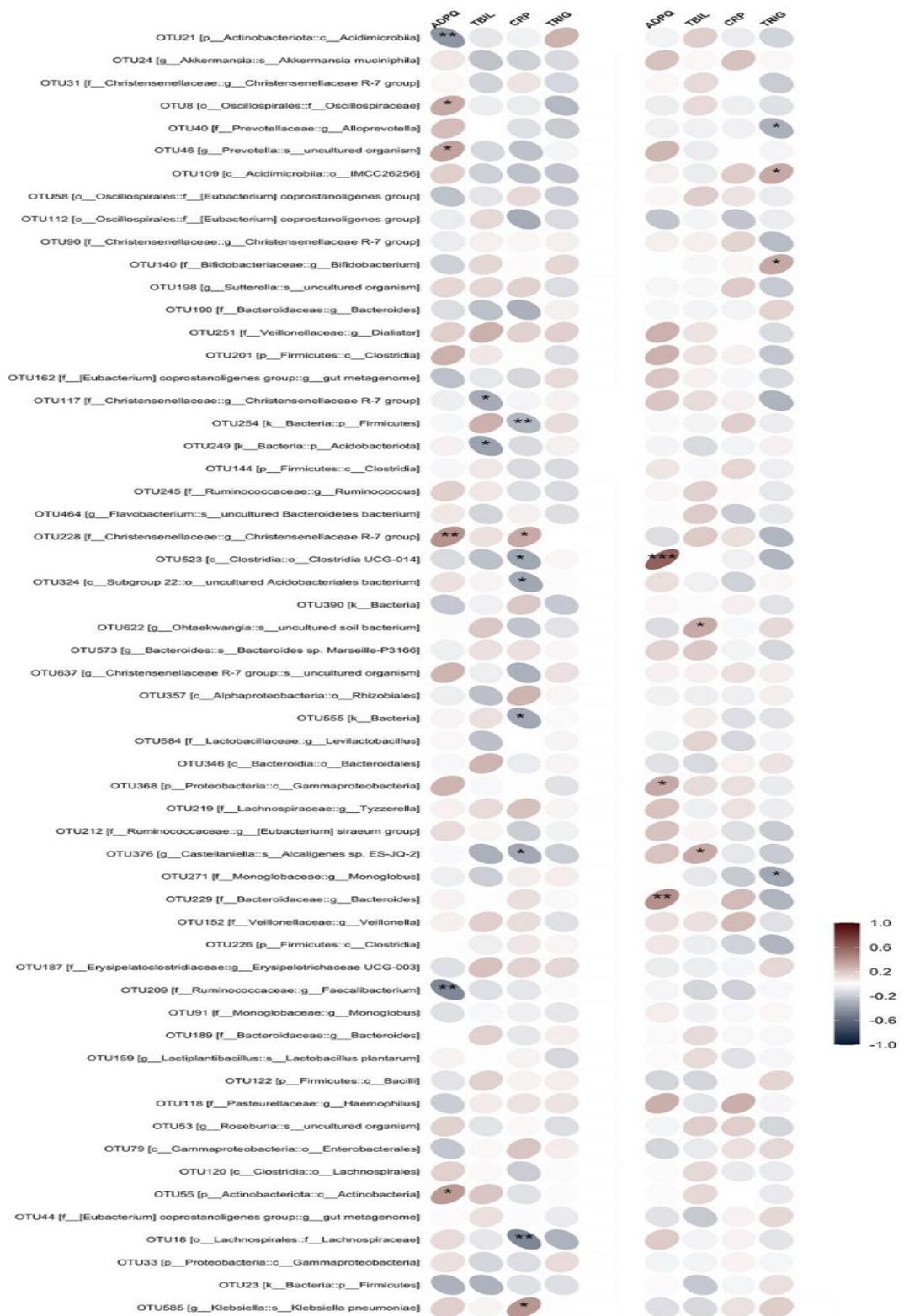


Рисунок 27 – Корреляция между С-реактивным белком, общим билирубином, триглицеридами и дифференциальными таксонами бактерий при БА (слева) и в группе сравнения (справа)

Отрицательная корреляция между Christensenellaceae R-7 и общим билирубином в группе БА представляет особый интерес, учитывая ранее обнаруженную связь этого таксона с долголетием и метаболическим здоровьем

[265]. Это может указывать на нарушение защитных механизмов при БА. Корреляции между различными таксонами и СРБ в группе БА подчеркивают потенциальную роль микробиома в модуляции системного воспаления при БА. Это согласуется с гипотезой о роли нейровоспаления в патогенезе БА [266]. В контрольной группе обнаруженные корреляции между таксонами и уровнем триглицеридов могут отражать влияние микробиома на липидный метаболизм. Особенно интересна положительная корреляция *Bifidobacterium* с уровнем триглицеридов, что может указывать на потенциальную роль этого пробиотического рода в регуляции липидного обмена [267].

3.6.2 Корреляции между цитокинами и кишечными бактериальными таксонами

Для углубления понимания взаимосвязи между воспалительными процессами и составом микробиома кишечника при болезни Альцгеймера мы провели корреляционный анализ между уровнями ключевых цитокинов и бактериальными таксонами. Мы оценили корреляции между значительно повышенными цитокинами (IL-13, IL-2, IL-17A, IL-1 α , IL-10) и различными бактериальными таксонами у пациентов с БА. Анализ выявил ряд значимых корреляций. IL-13 показал положительную корреляцию с *Erysipelotrichaceae*, *Olsenella genomsp* и *Gemmatimonadaceae*. IL-2 и IL-17A положительно коррелировали с *Erysipelotrichaceae*. Кроме того, IL-17A имел дополнительную положительную связь с *Bacteroidales* и *Phyllobacterium*. IL-1 α продемонстрировал положительную корреляцию с *Christensenellaceae R-7* и *Cloacibacillus porcorum*, но отрицательную с *Bifidobacterium* и *Bacilli*. Наконец, IL-10 положительно коррелировал с группой *Christensenellaceae R-7* и отрицательно коррелировал с *Bacilli*. Выявленные корреляции между цитокинами и бактериальными таксонами предоставляют ценную информацию о потенциальных взаимодействиях между иммунной системой и микробиомом кишечника при БА. Положительная связь *Erysipelotrichaceae* с провоспалительными цитокинами IL-13 и IL-17A согласуется с предыдущими исследованиями, связывающими этот таксон с воспалительными процессами. Это может указывать на потенциальную роль *Erysipelotrichaceae* в поддержании провоспалительного состояния при БА. Отрицательная корреляция между IL-1 α и *Bifidobacterium* особенно интересна, учитывая известные противовоспалительные свойства *Bifidobacterium*. Это может свидетельствовать о защитной роли *Bifidobacterium* в патогенезе БА через модуляцию воспалительных процессов. Положительная корреляция между противовоспалительным цитокином IL-10 и *Christensenellaceae R-7* заслуживает особого внимания. *Christensenellaceae R-7* ранее был связан с долголетием и метаболическим здоровьем, и его потенциальная роль в модуляции противовоспалительных процессов при БА представляет значительный интерес. Интересно отметить, что некоторые таксоны такие как *Christensenellaceae R-7* показывают корреляции как с про-, так и с противовоспалительными цитокинами. Это подчеркивает сложность взаимодействий между

микробиомом и иммунной системой и указывает на потенциальную регуляторную роль этих таксонов (рисунок 28).

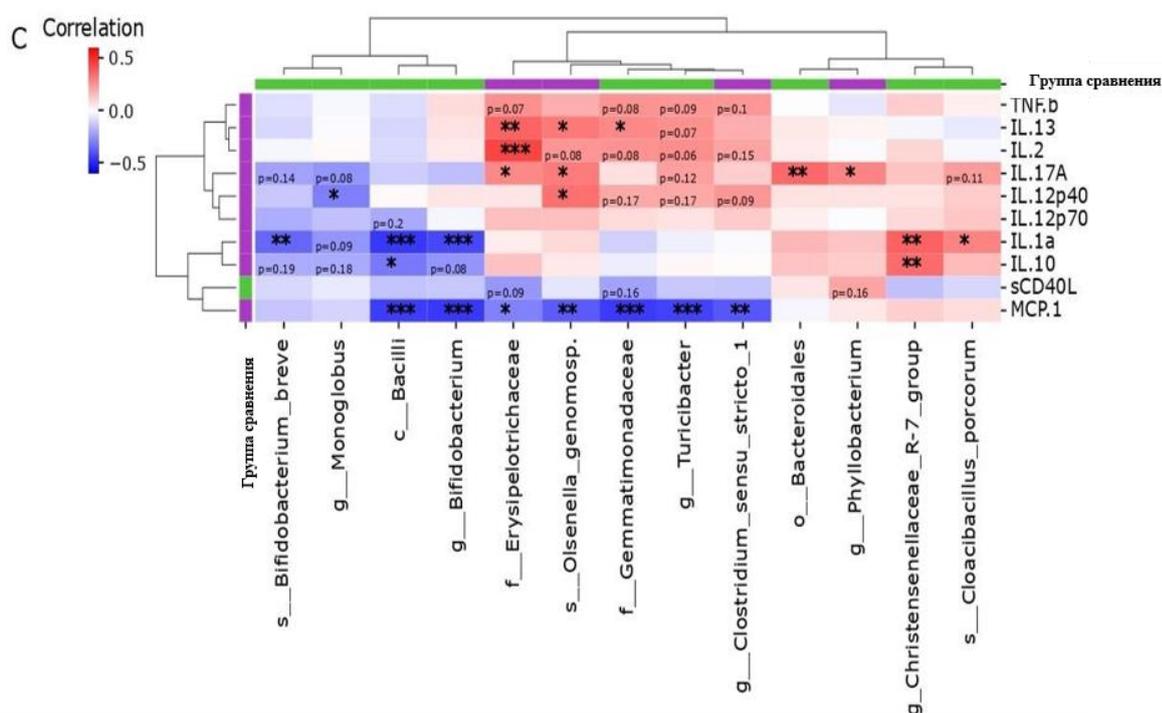


Рисунок 28 – Корреляционные кластерограммы

Примечания:

1. Параметры, обогащенные БА, выделены фиолетовым цветом.
2. Группа сравнения – выделен зеленым цветом по бокам тепловой карты.
3. Красный цвет указывает на положительную корреляцию.
4. Синий указывает на отрицательную корреляцию Спирмена, Рузвельта

3.7 Обсуждение результатов исследования

Выявленное значительное преобладание женщин в основной группе подтверждает тот факт, что женский пол является значимым фактором риска для развития БА, и согласуется с данными многочисленных эпидемиологических исследований и мета-анализов [71, p. 14-16; 72, p. S527-S532].

В нашем исследовании 15% пациентов с БА указали на наличие родственников первой линии с предполагаемой деменцией. Это значение превалировало от данного показателя группы сравнения в три раза. Полученные результаты обусловлены тем, что наследственный фактор связан с БА и может являться риском заболевания.

Существующие систематические обзоры исследований указывают на то, что проживание в сельской местности в раннем возрасте может быть связано с повышенным риском развития деменции в пожилом возрасте. В нашем

исследование, большая часть участников группы БА родились и выросли в сельской местности 54%, а в большом городе родились и выросли 22% участников группы сравнения против 14% людей из группы БА, эти различия были статистически значимые ($p < 0,002$). Мы предполагаем, что полученные результаты обусловлены низким уровнем образования и, соответственно, сниженным когнитивным резервом, что связано с рождением и проживанием в сельской местности в раннем возрасте. Наши результаты подтверждаются данными мировой литературы [75, p. 1012-1031]. Таким образом, можно предположить, что место рождения связано с БА.

Влияние повышенного артериального давления на риск развития БА сложно и зависит от возраста. В нашем исследовании мы выявили статистически значимые различия в отношении АГ между группами, а именно, в группе сравнения наблюдалось преобладание лиц с АГ в сравнении с группой БА на 16%. В нашем исследовании количество инсультов среди лиц без когнитивных нарушений отмечалось в 2.6 раза чаще по сравнению с группой БА. Как было отмечено выше, частота АГ была выше в группе сравнения, а как известно, АГ является значимым фактором риска инсультов. Полученные нами данные по АГ и инсультам в нашей выборке, которые чаще встречаются в группе без когнитивных нарушений, противоречат данным мировой литературы, относящие их к факторам риска БА. Мы предполагаем, что данные результаты обусловлены относительно небольшой выборкой и требует дальнейших исследований для установления взаимосвязи данных параметров и рисками БА в казахской популяции.

Возможная связь между депрессией и БА была предложена эпидемиологическими исследованиями и систематическими обзорами. Наше исследование показало статистически значимую разницу между группой БА и группой сравнения в отношении депрессии ($p = 0,01$). Это подчеркивает, насколько важно учитывать депрессию как существенный фактор риска и, возможно, ранний признак БА [8, p. e70019]. Частота встречаемости депрессии среди БА выше группы сравнения в два раза. Мы полагаем, что полученные нами данные обусловлены тем что хронический неразрешенный стресс вовлечен в патогенез БА, что соответствует данным исследования, где симптомы депрессии могут появляться одновременно с началом БА или следовать за ним [110, p. 712-717] или наличие депрессии в анамнезе может быть связано с примерно двукратным увеличением риска развития деменции [111, p. 1044-1052]. Это подтверждает важность учета депрессии как потенциального фактора риска и/или возможного раннего симптома БА для предупреждения, своевременного выявления и лечения.

В нашем исследовании выявлены различия в показателях функции печени между группой БА и контрольной группой. Уровень АЛТ был ниже в группе БА, а значение отношения АСТ/АЛТ было повышено. Мы предполагаем, что при БА нарушается энергетический метаболизм печени, характеризующийся гипометаболизмом печени, со снижением продукции трансаминаз: АЛТ, АСТ возможно, как следствие, снижение печеночной деградациии Аβ и, соответственно, высоким риском когнитивных нарушений. Полученные

результаты подтверждаются данными мировой литературы где (ссылки), где продемонстрирована прямая связь между сниженными концентрациями АЛТ, АСТ и когнитивными нарушениями и высоким риском деменции. Считается, что АЛТ связан с глюконеогенезом в печени и его снижение связано с низким уровнем глюкозы, доступной для энергетического обмена в тканях [118, p. 780174]. Повышенные значения соотношения АСТ к АЛТ были связаны с более низкими уровнями амилоида- β 1-42 в спинномозговой жидкости (β (SE), -0,170 (0,061); $p=0,04$) и повышенным отложением амилоида- β (биомаркеры амилоида), более высоким уровнем фосфорилированного тау 181 в спинномозговой жидкости (β (SE), 0,175 (0,055); $p=0,02$) (биомаркеры тау) и более высокими уровнями общего тау в спинномозговой жидкости (β (SE), 0,160 (0,049); $p=0,02$) и сниженным метаболизмом глюкозы в мозге (β (SE), -0,123 (0,042); $p=0,03$) (биомаркеры нейродегенерации). Более низкие уровни АЛТ были связаны с повышенным отложением амилоида- β (биомаркеры амилоида) и сниженным метаболизмом глюкозы в мозге (β (SE), 0,096 (0,030); $p=0,02$) и большей атрофией (биомаркеры нейродегенерации) [117, p. e197978]. Таким образом, мы имеем право предполагать, об участии биохимических маркеров печеночной функции на патогенез заболевания. Причинно-следственная связь остается дискуссионной и требует дальнейших исследований. Участие ферментов печени в патофизиологии БА открывает возможности для новых диагностических и терапевтических стратегий [117, p. e197978].

В нашем исследовании было выявлено различие по показателю триглицериды между группой БА и группой сравнения ($p=0,00$). Уровень триглицеридов был выше в группе сравнения. Мы полагаем, что полученные данные обусловлены тем что, триглицериды влияют преимущественно на развитие сердечно-сосудистых заболеваний, учитывая также что АГ и инсульты чаще встречались в группе сравнения. Наши результаты подтверждаются предыдущими исследованиями, которые заявляют, что более высокие показатели триглицеридов в плазме связаны с повышенным риском деменции, не связанной с БА. Хотя в других исследованиях, напротив, указывают на повышение триглицеридов у пациентов с БА [133, p. 245-254; 136, p. 2118-1-2118-12]. Результаты исследования выявили статистически значимые различия по ЛПНП между исследуемыми группами. Так, в основной группе медианные значения по ЛПНП были выше в сравнении с группой сравнения. Известно, что ЛПНП является значимым фактором развития атеросклеротических изменений и осложнений сердечно-сосудистых заболеваний. Мы предполагаем, что ЛПНП вызывают сосудистые и нейротоксические эффекты в мозге и связаны с БА. Эти результаты согласуются с [127, p. 930-937; 130, p. 711-714]. которые показали, что ЛПНП участвует в накоплении β -амилоида и концентрации тау и нарушении клеточного цикла, а в другом исследовании, заявлено, что генетически низкий уровень холестерина ЛПНП был связан со сниженным риском, что предполагает причинно-следственный эффект низкого уровня холестерина ЛПНП в снижении риска болезни Альцгеймера [127 p. 930-937; 129, p. 2313-2329].

Уровни инсулина сыворотки крови демонстрируют статистически значимые различия между группами, где более высокие значения обнаружены в группе сравнения. Полученные нами данные противоречат другим исследованиям [122, р. 839-847], продемонстрировавшим повышенные уровни инсулина в сыворотке крови у БА, а также связь изменения уровней инсулина с тяжестью заболевания. Тем не менее, низкие концентрации инсулина в крови и высокие концентрации амилоид β являются факторами старения, связанными с рисками БА. Полученные результаты не позволяют определить роль инсулина в патогенезе БА и, возможно, обусловлены относительно небольшой выборкой и требуют дальнейших исследований [121, р. 540-547; 123, р. 229-239].

В последнее десятилетие были опубликованы многочисленные исследования взаимосвязи между микробиотой и центральной нервной системой (ЦНС), предполагающие концепцию «оси мозг-кишечник-микробиота» [189, р. 48-59]. Имеется много опубликованных работ, показывающих влияние дисбактериоза кишечника, вызванного изменением диеты, приемом антибиотиков, нестероидных противовоспалительных препаратов, присутствием патогенных микроорганизмов на когнитивные способности мозга [195, р. 357-370; 196, р. 1-14]. Кроме того, недавние исследования выявили корреляцию между количеством и качеством микробиоты кишечника и БА [187, р. 3102-3115; 205, р. 1337-1345].

Например, исследования на животных моделях БА выявили существенные различия в составе кишечной микробиоты трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий ген APP и PS1, от мышей дикого типа [203, р. 41802-1-41802-12]. Количество Firmicutes, Verrucomicrobia, Proteobacteria и Actinobacteria было значительно снижено, тогда как Bacteroidetes и Tenericutes были увеличены у 8-месячных мышей CONVR-APPPS1 по сравнению с мышами дикой природы. Кроме того, в мозгу мышей CONVR-APPPS1, выращенных в стерильных условиях, наблюдалось существенное снижение отложений $A\beta$ по сравнению с животными того же генотипа, выращенными в нормальных условиях. Кроме того, уровень экспрессии $A\beta$ повышался после трансплантации микробиоты от мышей CONVR-APPPS1, выращенных в нормальных условиях, мышам CONVR-APPPS1, выращенным в асептической среде. Напротив, фекальная трансплантация от мышей дикого типа не изменила уровни $A\beta$ в ЦНС. Доказательства, полученные в ходе клинических исследований, подтвердили результаты исследований на лабораторных животных. Например, была описана связь амилоидоза головного мозга с кишечными бактериальными таксонами и периферическими маркерами, способствующими воспалению у людей пожилого возраста с деменцией [265, р. 129-1-129-8]. Это исследование показало, что участников дементной группы и амилоидозом головного мозга повышенные концентрации цитокинов с провоспалительным действием в сыворотке крови (IL-6, CXCL2, NLRP3 и IL-1 β) положительно коррелировал с рядом некоторых провоспалительных кишечных бактерий, таких как *Escherichia/Shigella* и отрицательно связанный с противовоспалительным действием *E. rectale* таксон. Эти ассоциации провоспалительных кишечных бактерий с повышенным уровнем

провоспалительных цитокинов в крови позволяют предположить, что изменения микробиоты кишечника могут быть одним из факторов, ответственных за хроническое периферическое воспаление, приводящее к развитию нейровоспаления и нейродегенерации. В поддержку этого представления исследования микробиоты пациентов с болезнью Паркинсона показали, что клинический фенотип и тяжесть заболевания каким-то образом коррелируют с изменениями кишечной микробиоты и повышенным уровнем цитокинов в плазме [258, p. e00632-19-1-e00632-19-13].

В Центре по исследованиям БА (Исследовательский центр болезни Альцгеймера Висконсина, США) исследователи обнаружили выраженные изменения в составе кишечной микробиоты у участников с БА и когнитивно здоровых людей на уровне филума и вида. В кишечной микробиоте участников с БА эти исследования обнаружили уменьшение количественного состава бактерий, относящихся к типам Firmicutes и Actinobacteria (особенно бактерий рода *Bifidobacterium*), и повышение количественного состава бактерий, принадлежащих к типу Bacteroidetes. Кроме того, появилась дифференциальная связь между степенями отдельных родов бактерий в пищеварительном тракте и цереброспинальными маркерами БА, например, A β 42/A β 40, p-tau, так же как и соотношение A β /p-tau [190, p. 13537-1-13537-10]. Bacteroides, Actinobacteria, Ruminococcus, Lachnospiraceae и Selenomonadales, как показали исследования, проведенные в Медицинском университете Чунцина в Китае, вызывают существенные изменения в спектре бактерий, присутствующих в кишечнике людей с болезнью Альцгеймера [259, p. 1357-1365]. Однако личные изменения кишечной микробиоты у китайских пациентов в некоторой степени отличались от таковых в США. Согласно Zhuang et al., количество бактерий, принадлежащих к типу Bacteroidetes уменьшается. Напротив, по сравнению с лицами без когнитивных нарушений количество бактерий в типе Firmicutes осталось неизменным.

В нашей когорте различия в таксонах бактерий между БА и группой сравнения характеризовались повышенным содержанием Acidobacteriota, Latescibacterota, Verrucomicrobiota, Synergistota, Planctomycetota и Zixibacteria на уровне типа. Наши результаты также продемонстрировали относительно более низкую численность *Bifidobacterium* и микроорганизмов, принадлежащих к семейству Lactobacillaceae. Таким образом, биомаркеры микробиоты больных БА из населения Казахстана отличаются от ранее опубликованных данных. Однако, несмотря на близкое географическое расположение Казахстана к Китаю и преимущественно азиатское происхождение казахского населения, наши данные в большей степени согласуются с результатами Vogt et al. [190, p. 13537-1-13537-10] по сравнению с выводами Zhuang et al. [205, p. 1337-1345], которые сообщили об увеличении количества Lactobacillaceae и не сообщили о каких-либо изменениях *Bifidobacterium*. Эти сходства могут быть обусловлены такими факторами, как полиэтничность казахского населения, прозападные предпочтения в еде и относительно схожие климатические условия района города Астана и Висконсина. Интересно, Таксоны *Bifidobacteria* и Lactobacillaceae участвуют в производстве важных метаболитов

(нейротрансмиттеров, нейроактивных метаболитов, КЦЖК и т.д.), которые играют решающую роль в поддержании здоровой когнитивной, нейропсихиатрической функции и снижение которых может быть связано с риском развития нейродегенеративных расстройств [268].

Было высказано предположение, что микробиота кишечника активно участвует в метаболизме хозяина. В частности, несколько исследований показали, что фекальные бактерии могут влиять на метаболизм жирных кислот и липидов [269, 270]. Например, в исследованиях на людях семейство Clostridiaceae/Lachnospiraceae было связано с ЛПНП, Pasteurellaceae, Coprococcus и родом Collinsella, а виды Stercoris показали связь с уровнями триглицеридов [271]. Состав кишечника у лиц с гиперхолестеринемией характеризовался меньшим обилием родов Anaeroplasmia и Haemophilus, при более высоком присутствии Odoribacter; Anaeroplasmia и Haemophilus коррелировали с профилем липидов [272]. Были выявлены значительные корреляции между метаболизмом липидов и измененной микрофлорой кишечника при ишемической болезни сердца [273, 274].

За последнее десятилетие стало очевидным, что хроническое периферическое воспаление является одним из важных факторов, в значительной степени способствующих развитию и прогрессированию БА. Существует также предположение, что развитие спорадического БА может быть вызвано периферическим воспалением, связанным с микробиомом [155, р. 1087571]. Предыдущие исследования, изучающие связи между кишечной микробиотой и С-реактивным белком маркера воспаления низкой степени, показали, что Ruminococcaceae, Akkermansia и Lactobacillales связаны с риском тревоги и депрессии [275]. У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями периферический СРБ был связан с обилием Bifidobacterium, Faecalibacterium, Ruminococcus и Prevotella [276]. В нашем исследовании мы наблюдали корреляцию между СРБ и Firmicutes, бактерией Acidobacteriales, Castellaniella alcaligenes, Lachnospiraceae, Christensenellaceae R-7 и Klebsiella pneumoniae среди участников группы БА.

Метаболический профиль микробиома БА показывает преобладающее присутствие путей, связанных с сахаром, молекулами-носителями, тетрапирролом, биосинтезом пиримидинов и процессингом нуклеиновых кислот. Этот анализ также выявил заметное снижение путей деградации углеводов, полисахаридов, полиаминов и мио-инозитола. При сравнении микробиома кишечника группы БА с группой сравнения также наблюдалось снижение представленности таких путей, как ферментация короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). КЦЖК являются важными метаболитами, полученными в результате ферментации пищевых волокон микробиотой кишечника, которые участвуют в метаболизме хозяина, иммунной регуляции, регулировании аппетита и т.д. Недавние исследования взаимодействия кишечника и мозга показали, что КЦЖК являются важными медиаторами этой оси, и существует доказательства того, что измененный метаболизм КЦЖК,

особенно бутирата, вызывает важные биологические эффекты, которые препятствуют развитию БА [277, 278].

Увеличение количества провоспалительных цитокинов IL-1 α , IL-8, IL-17A, IL-12p40, TNF- β , MCP-1, IL-2 и IL-12p70, а также противовоспалительных цитокинов IL-10 и IL-1. 13 случаев, наблюдаемых у пациентов с БА в нашем исследовании, согласуются с предыдущими данными об иммунной дисфункции при БА [279]. Наш анализ выявил маркеры воспаления IL-1 α и IL-8 как главные дискриминаторы между пациентами с БА и группой сравнения. IL-1 α , роль которого при БА широко исследуется, связан с нейровоспалением и образованием бета-амилоидных бляшек, что является отличительным признаком патогенеза БА [280, 281]. IL-8, хемокин, привлекает иммунные клетки, такие как нейтрофилы, во время воспалительных явлений [282]. При БА IL-8 также связан с нейровоспалением и может оказывать нейротоксический эффект, приводящий к гибели нейронов. Клинические исследования также подтверждают роль IL-8 при БА [283], при этом повышенные концентрации IL-8 наблюдаются в спинномозговой жидкости пациентов с БА и лиц с легкими когнитивными нарушениями [284], что указывает на его значимость на ранних стадиях заболевания. Примечательно, что в нашем исследовании IL-1 α и IL-8 продемонстрировали отрицательную корреляцию с различными видами *Bifidobacterium*. Это подчеркивает потенциальное взаимодействие между конкретными кишечными микробами и маркерами воспаления. Это требует дальнейшего исследования для выяснения механизмов, связывающих микробиоту с патогенезом БА. Отчетливые ассоциации с полезными видами *Bifidobacterium* также указывают на потенциальные терапевтические пути, опосредованные микробиомами.

Корреляционные исследования также выявили потенциальную связь между повышенными уровнями цитокинов у пациентов с БА и более высокой распространенностью таких групп бактерий, как *Erysipelotrichaceae*, *Olsenella* и *Bacteroidales*.

Понимание болезни Альцгеймера как длительного патофизиологического процесса, предшествующего клиническим симптомам, является современной парадигмой в изучении этого заболевания. Этот процесс может занять годы, даже десятилетия, прежде чем явные клинические признаки деменции начнут проявляться. Кроме того, исследования этиологии и патофизиологии БА убедительно свидетельствуют о том, что это заболевание является многофакторным, причем наследственные и экологические факторы способствуют его возникновению и прогрессированию [8, p. e70019]. Исследование клинико-биохимической и социально-демографической характеристики пациентов с болезнью Альцгеймера и когнитивно здоровых пожилых людей позволило выявить различия в клинических, биохимических и социально-демографических показателях между этими группами пациентов. Результаты исследования также указывают на важность учета социально-демографических факторов при изучении этого заболевания. Эти результаты могут быть полезны для дальнейших исследований и разработки

индивидуализированных подходов к управлению и лечению болезни Альцгеймера в разных регионах.

Наш комплексный анализ микробных, иммунных и здоровых маркеров предоставляет доказательства взаимодействия микробиот и иммунитета, которые могут влиять на риск БА. Эти наблюдения требуют более строгих механистических исследований, чтобы определить, приводит ли дисбактериоз кишечника к воспалительным изменениям, которые могут обеспечить патогенез БА, проявляя иммунную сложную взаимозависимость процессов и микробного состава. Эти данные объединяют потенциал воспалительных, метаболических и кишечных микробных показателей в признак дифференциации БА. Ключевые характеристики, режим классификационной модели GBDT, совпадают с характерными фенотипическими последствиями пациентов с БА, такими как высокий уровень провоспалительных цитокинов [285], нарушение регуляции факторов роста [286] и дисбаланс микробиоты кишечника [287]. Необходимы исследования, изучающие связи между кишечными микробами, циркулирующими цитокинами и нейропатологией БА. Для выполнения прямых задач необходимы интервенционные исследования, модулирующие микробы и измерительные приборы, влияющие на когнитивные функции. Тем не менее, наши результаты выявляют потенциальные микробные и воспалительные признаки у этнически различных групп пациентов с БА, которые могут служить биомаркерами БА и терапевтическими мишенями на основе микробиоты.

Таким образом, мы впервые исследовали состав микробиоты кишечника у больных БА из Центрально-Азиатского региона. В соответствии с предыдущими сообщениями, наше исследование показало, что микробиота кишечника изменяется у людей с БА. Однако биомаркеры микробиоты больных БА из Казахстана не идентичны микробиомам лиц с БА из других стран. Кроме того, мы сообщили о захватывающих корреляциях между профилем сыворотки крови и некоторыми таксонами фекальных бактерий. Значимые результаты были получены и при корреляционном анализе между тяжестью заболевания и особенностями метаомики. Сосредоточив внимание на механизме взаимодействия между микробиотой человека, периферическим метаболизмом и мозгом, мы можем раскрыть новые патофизиологические пути, ведущие к возникновению и прогрессированию БА и других нейродегенеративных расстройств. Изучение взаимосвязей между микробиотой человека и БА в различных этнических популяциях позволит оценить вклад биогеографии и образа жизни в увеличение распространенности деменции и разработать практические рекомендации по профилактике и лечению этой тяжелой патологии. Однако необходимы дополнительные исследования, чтобы подтвердить наши результаты и раскрыть новые связи между образом жизни, микробиотой кишечника и нейродегенеративными расстройствами в различных этнических группах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов были получены следующие **выводы:**

1. У пациентов с БА наблюдается повышение ЛПНП на 11%($p=0,04$), снижение АЛТ на 17%($p<0,0001$), АСТ на 5%($p<0,0001$), инсулина на 34%($p=0,04$), повышение коэффициента де Ритиса на 15% по сравнению с группой сравнения.

2. У пациентов с БА фиксируется истощение противовоспалительного звена иммунитета, которое подтверждается снижением уровня противовоспалительных цитокинов: FGF2 на 10% ($p=0,0005$), PDGFAA на 20% ($p=0,006$), PDGF.AB.BB на 20% ($p=0,002$), SCD40L на 2% ($p=0,01$), RANTES на 55% ($p=0,006$) и повышением уровня провоспалительных цитокинов IL12p70 в 3 раза (на 65%) ($p=0,02$) и IP10 на 3% ($p=0,04$) в группе БА по сравнению с группой сравнения.

3. У пациентов с БА фиксируется кишечный дисбиоз, характеризующийся изменением численности фекальных бактерий Acidomicrobiota ($p<0,001$), Verrucomicrobiota ($p=0,0149$), Planctomycetota ($p=0,0292$) и Synergistota ($p=0,0033$) у пациентов с БА. Среди родов бактерий микробиота участника БА понижены количество Bifidobacterium ($p=0,0204$), Clostridia бактерии ($p=0,0264$), Castellaniella ($p=0,0019$), Erysipelotrichaceae UCG-003 ($p=0,0066$), Roseburia ($p=0,0098$), Tuzerella ($p=0,0038$), Lactobacillaceae (Lactiplantibacillus, Latilactobacillus, Levilactobacillus $p <0,05$) и Monoglobus ($p=0,0019$).

4. Между сообществом кишечной микробиоты и тяжестью заболевания имеется корреляционная зависимость. Средняя форма БА коррелировала с Bacteroides (OTU3880), Methyloirabilota (OTU903), некультивируемыми бактериями Clostridiales (OTU2480), Prevotellaceae (OTU726), а тяжелая форма БА коррелировала с Symbiobacteraceae (OTU530), некультивируемыми протеобактериями (OTU3544), Clostridia vadinBB60 (OTU406), Collinsella (OTU2030), Caldilineales (OTU300), некультивируемые прокариоты Latescibacterota (OTU3172), некультивируемые археи Elusimicrobiota Lineage lib (OTU5211), группа Cristensenellaceae R-7, некультивируемые бактерии Clostridia (OTU1726) и метагеном кишечника (OTU1452). Опираясь на данные результаты, можно предположить о связи между прогрессированием БА и изменениями в составе микробиома кишечника, о роли кишечного дисбиоза в патогенезе БА.

5. Установлены корреляционная зависимость между определенными таксонами кишечной микробиоты и такими биохимическими показателями крови как билирубин, триглицериды и СРБ. В группе БА общий билирубин коррелировал средней отрицательной связью с группой Cristensenellaceae R-7 (OTU117) и Acidobacteriota (OTU249). Наблюдалась средняя отрицательная корреляция СРБ с Firmicutes (OTU254), Acidobacteriales (OTU324), Castellaniella alcaligenes (OTU376) и Lachnospiraceae (OTU18), тогда как Cristensenellaceae R-7 (OTU 228) и Klebsiella pneumonia(OTU585) коррелировали средней

положительной связью с СРБ. Билирубин коррелировал средней положительной связью с *Castellaniella alcaligenes* (OTU376) и некультивируемой *Ohtaekwangia* (OTU622). Таксоны *Acidimicrobii* (OTU109) и *Bifidobacterium* (OTU140) коррелировали средней положительной связью, в то время как таксоны *Aloprevotella* (OTU40) и *Monoglobus* (OTU271) коррелировали средней отрицательной связью с уровнем триглицеридов в группе сравнения. Выявленная корреляционная зависимость между лабораторными показателями крови и составом микробиоты кишечника указывают на потенциальные взаимосвязи между системным метаболизмом и микробиомом при БА.

6. Установлены положительная корреляционная зависимость между IL-13 с *Erysipelotrichaceae* ($p < 0,01$), *Olsenella genomosp* ($p < 0,05$) и *Gemmatimonadaceae* ($p < 0,05$). IL-2 ($p < 0,01$) и IL-17A положительно коррелировали с *Erysipelotrichaceae*. IL-17A положительно коррелировал с *Bacteroidales* ($p < 0,01$) и *Phyllobacterium* ($p < 0,05$). IL-1 α положительно коррелировал с *Christensenellaceae R-7* ($p < 0,01$) и *Cloacibacillus porcorum* ($p < 0,05$), но отрицательно с *Bifidobacterium* ($p < 0,001$) и *Bacilli* ($p < 0,001$). IL-10 положительно коррелировал с группой *Christensenellaceae R-7* ($p < 0,01$) и отрицательно коррелировал с *Bacilli* ($p < 0,05$).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Alzheimer's disease facts and figures / Alzheimer Sassocition // *Alzheimers Dement.* – 2024. – Vol. 20, Issue 5. – P. 3708-3821.
- 2 Dementia statistics: How many people have dementia worldwide? Are the numbers increasing? What is the cost of dementia care? // <https://www.alzint.org/about/dementia-facts-figures/dementia-statistics/>. 10.10.2024.
- 3 Preobrazhenskaya I., Snitskaya N. The development and treatment of Alzheimer's disease: Some genetic aspects // *Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics.* – 2014. – Vol. 6, Issue 4. – P. 51-58.
- 3 Garre-Olmo J. Epidemiology of Alzheimer's disease and other dementias // *Rev Neurol.* – 2018. – Vol. 66, Issue 11. – P. 377-386.
- 5 Silva M.V.F. et al. Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures // *J Biomed Sci.* – 2019. – Vol. 26, Issue 1. – P. 33-1-33-11.
- 6 Armstrong R.A. Risk factors for Alzheimer's disease // *Folia Neuropathol.* – 2019. – Vol. 57, Issue 2. – P. 87-105.
- 7 Crous-Bou M., Minguillón C., Gramunt N. et al. Alzheimer's disease prevention: from risk factors to early intervention // *Alzheimers Res Ther.* – 2017. – Vol. 9, Issue 1. – P. 71-1-71-9.
- 8 Zholdasbekova G., Kaiyrylkyzy A., Kassenova A. et al. ApoE Gene Polymorphism and Clinical, Biochemical, and Sociodemographic Characteristics of Alzheimer's Disease Patients From Northern and Southern Regions of Kazakhstan // *Int J Geriatr Psychiatry.* – 2024. – Vol. 39, Issue 11. – P. e70019.
- 9 Hampel H., Hardy J., Blennow K. et al. The Amyloid- β Pathway in Alzheimer's Disease // *Mol Psychiatry.* – 2021. – Vol. 26, Issue 10. – P. 5481-5503.
- 10 Roher A.E., Kokjohn T.A. et al. APP/A β structural diversity and Alzheimer's disease pathogenesis // *Neurochem Int.* – 2017. – Vol. 110. – P. 1-13.
- 11 Pugazhenth S., Qin L., Reddy P.H. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2017. – Vol. 1863, Issue 5. – P. 1037-1045.
- 12 Alzheimer's disease facts and figures / Alzheimer Sassocition // *Alzheimers Dement.* – 2016. – Vol. 12, Issue 4. – P. 459-509.
- 13 Silva D.F., Selfridge J.E., Lu J. et al. Bioenergetic flux, mitochondrial mass and mitochondrial morphology dynamics in AD and MCI cybrid cell lines // *Hum Mol Genet.* – 2013. – Vol. 22, Issue 19. – P. 3931-3946.
- 14 Zhu X., Lee H.G., Casadesus G. et al. Oxidative imbalance in Alzheimer's disease // *Mol Neurobiol.* – 2005. – Vol. 31, Issue 1-3. – P. 205-217.
- 15 Moreira P.I., Carvalho C., Zhu X. et al. Mitochondrial dysfunction is a trigger of Alzheimer's disease pathophysiology // *Biochim Biophys Acta.* – 2010. – Vol. 1802, Issue 1. – P. 2-10.
- 16 Hampel H., Cummings J., Blennow K. et al. Developing the ATX(N) classification for use across the Alzheimer disease continuum // *Nat Rev Neurol.* – 2021. – Vol. 17, Issue 9. – P. 580-589.
- 17 Findley C. What are Alzheimer's Plaques and Tangles? // <https://www.brightfocus.org/news/amyloid-plaques-and-neurofibrillary-tangles>. 22.02.2024.

- 18 Hou J., Chen Y., Cai Z. et al. Antibody-mediated targeting of human microglial leukocyte Ig-like receptor B4 attenuates amyloid pathology in a mouse model // *Sci Transl Med.* – 2024. – Vol. 16, Issue 741. – P. eadj9052.
- 19 Santos R.X., Correia S.C., Wang X. et al. Alzheimer's disease: diverse aspects of mitochondrial malfunctioning // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2010. – Vol. 3, Issue 6. – P. 570-581.
- 20 Pimenova A.A., Raj T., Goate A.M. Untangling Genetic Risk for Alzheimer's Disease // *Biol Psychiatry.* – 2018. – Vol. 83, Issue 4. – P. 300-310.
- 21 Jansen I.E., Savage J.E., Watanabe K. et al. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk // *Nat Genet.* – 2019. – Vol. 51, Issue 3. – P. 404-413.
- 22 Cruts M., Theuns J., Van Broeckhoven C. Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases // *Hum Mutat.* – 2012. – Vol. 33, Issue 9. – P. 1340-1344.
- 23 Hooli B.V., Mohapatra G., Mattheisen M. et al. Role of common and rare APP DNA sequence variants in Alzheimer disease // *Neurology.* – 2012. – Vol. 78, Issue 16. – P. 1250-1257.
- 24 Hartley D., Blumenthal T., Carrillo M. et al. Down syndrome and Alzheimer's disease: Common pathways, common goals // *Alzheimers Dement.* – 2015. – Vol. 11, Issue 6. – P. 700-709.
- 25 Di Fede G., Catania M., Morbin M. et al. Good gene, bad gene: new APP variant may be both // *Prog Neurobiol.* – 2012. – Vol. 99, Issue 3. – P. 281-292.
- 26 Tanzi R.E. The genetics of Alzheimer disease // *Cold Spring Harb Perspect Med.* – 2012. – Vol. 2, Issue 10. – P. a006296.
- 27 Cai Y., An S.S., Kim S. Mutations in presenilin 2 and its implications in Alzheimer's disease and other dementia-associated disorders // *Clin Interv Aging.* – 2015. – Vol. 10. – P. 1163-1172.
- 28 Sims R., Hill M., Williams J. The multiplex model of the genetics of Alzheimer's disease // *Nat Neurosci.* – 2020. – Vol. 23, Issue 3. – P. 311-322.
- 29 Nixon R.A. Amyloid precursor protein and endosomal-lysosomal dysfunction in Alzheimer's disease: inseparable partners in a multifactorial disease // *Faseb j.* – 2017. – Vol. 31, Issue 7. – P. 2729-2743.
- 30 He Z., Guo J.L., McBride J.D. et al. Amyloid- β plaques enhance Alzheimer's brain tau-seeded pathologies by facilitating neuritic plaque tau aggregation // *Nat Med.* – 2018. – Vol. 24, Issue 1. – P. 29-38.
- 31 Wang L., Benzinger T.L., Su Y. et al. Evaluation of Tau Imaging in Staging Alzheimer Disease and Revealing Interactions Between β -Amyloid and Tauopathy // *JAMA Neurol.* – 2016. – Vol. 73, Issue 9. – P. 1070-1077.
- 32 Busche M.A., Hyman B.T. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease // *Nat Neurosci.* – 2020. – Vol. 23, Issue 10. – P. 1183-1193.
- 33 Perry V.H., Holmes C. Microglial priming in neurodegenerative disease // *Nat Rev Neurol.* – 2014. – Vol. 10, Issue 4. – P. 217-224.
- 34 Heneka M.T., Carson M.J., El Khoury J. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease // *Lancet Neurol.* – 2015. – Vol. 14, Issue 4. – P. 388-405.

- 35 Sarlus H., Heneka M.T. Microglia in Alzheimer's disease // *J Clin Invest.* – 2017. – Vol. 127, Issue 9. – P. 3240-3249.
- 36 Wang S., Colonna M. Microglia in Alzheimer's disease: A target for immunotherapy // *J Leukoc Biol.* – 2019. – Vol. 106, Issue 1. – P. 219-227.
- 37 Condello C., Yuan P., Schain A. et al. Microglia constitute a barrier that prevents neurotoxic protofibrillar A β 42 hotspots around plaques // *Nat Commun.* – 2015. – Vol. 6. – P. 6176-1-6176-28.
- 38 Edwards F.A. A Unifying Hypothesis for Alzheimer's Disease: From Plaques to Neurodegeneration // *Trends Neurosci.* – 2019. – Vol. 42, Issue 5. – P. 310-322.
- 39 Streit W.J., Xue Q.S, Tischer J. et al. Microglial pathology // *Acta Neuropathol Commun.* – 2014. – Vol. 2. – P. 142-1-142-17.
- 40 Wang Y., Zhu T., Wang M. et al. Icaritin Attenuates M1 Activation of Microglia and A β Plaque Accumulation in the Hippocampus and Prefrontal Cortex by Up-Regulating PPAR γ in Restraint/Isolation-Stressed APP/PS1 Mice // *Front Neurosci.* – 2019. – Vol. 13. – P. 291-1-291-16.
- 41 Liu C.C., Liu C.C., Kanekiyo T. et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy // *Nat Rev Neurol.* – 2013. – Vol. 9, Issue 2. – P. 106-118.
- 42 Nyarko J.N.K, Quartey M.O., Pennington P.R. et al. Profiles of β -Amyloid Peptides and Key Secretases in Brain Autopsy Samples Differ with Sex and APOE ϵ 4 Status: Impact for Risk and Progression of Alzheimer Disease // *Neuroscience.* – 2018. – Vol. 373. – P. 20-36.
- 43 Liu P.P., Xie Y., Meng X.Y. et al. Erratum: Author Correction: History and progress of hypotheses and clinical trials for Alzheimer's disease // *Signal Transduct Target Ther.* – 2019. – Vol. 4. – P. 37.
- 44 Chen Z.R., Huang J.B., Yang .SL. et al. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease // *Molecules.* – 2022. – Vol. 27, Issue 6. – P. 1816-1-1816-23.
- 45 Hampel H., Mesulam M.M., Cuello A.C. et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease // *Brain.* – 2018. – Vol. 141, Issue 7. – P. 1917-1933.
- 46 Ferreira-Vieira T.H., Guimaraes I.M., Silva F.R. et al. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System // *Curr Neuropharmacol.* – 2016. – Vol. 14, Issue 1. – P. 101-115.
- 47 Tyan S.H., Shih A.Y., Walsh J.J. et al. Amyloid precursor protein (APP) regulates synaptic structure and function // *Mol Cell Neurosci.* – 2012. – Vol. 51, Issue 1-2. – P. 43-52.
- 48 Head E., Powell D., Gold B.T. et al. Alzheimer's Disease in Down Syndrome // *Eur J Neurodegener Dis.* – 2012. – Vol. 1, Issue 3. – P. 353-364.
- 49 O'Brien R.J., Wong P.C. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease // *Annu Rev Neurosci.* – 2011. – Vol. 34. – P. 185-204.
- 50 Reitz C. Alzheimer's disease and the amyloid cascade hypothesis: a critical review // *Int J Alzheimers Dis.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 369808.

51 Pooler A.M., Polydoro M., Wegmann S. et al. Propagation of tau pathology in Alzheimer's disease: identification of novel therapeutic targets // *Alzheimers Res Ther.* – 2013. – Vol. 5, Issue 5. – P. 49-1-49-8.

52 Nelson A.R., Sweeney M.D., Sagare A.P. et al. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease // *Biochim Biophys Acta.* – 2016. – Vol. 1862, Issue 5. – P. 887-900.

53 Provias J., Jeynes B. The role of the blood-brain barrier in the pathogenesis of senile plaques in Alzheimer's disease // *Int J Alzheimers Dis.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 191863.

54 Tarantini S., Tran C.H.T., Gordon G.R. et al. Impaired neurovascular coupling in aging and Alzheimer's disease: Contribution of astrocyte dysfunction and endothelial impairment to cognitive decline // *Exp Gerontol.* – 2017. – Vol. 94. – P. 52-58.

55 Montagne A., Barnes S.R., Sweeney M.D. et al. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus // *Neuron.* – 2015. – Vol. 85, Issue 2. – P. 296-302.

56 Stanimirovic D.B., Friedman A. Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? // *J Cereb Blood Flow Metab.* – 2012. – Vol. 32, Issue 7. – P. 1207-1221.

57 Sagare A.P., Bell R.D., Zlokovic B.V. Neurovascular dysfunction and faulty amyloid β -peptide clearance in Alzheimer disease // *Cold Spring Harb Perspect Med.* – 2012. – Vol. 2, Issue 10. – P. a011452-1-a011452-17.

58 Pantiya P., Thonusin C., Chattipakorn N. et al. Mitochondrial abnormalities in neurodegenerative models and possible interventions: Focus on Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease // *Mitochondrion.* – 2020. – Vol. 55. – P. 14-47.

59 Martins I.V., Rivers-Auty J., Allan S.M. et al. Mitochondrial Abnormalities and Synaptic Loss Underlie Memory Deficits Seen in Mouse Models of Obesity and Alzheimer's Disease // *J Alzheimers Dis.* – 2017. – Vol. 55, Issue 3. – P. 915-932.

60 Kandimalla R., Manczak M., Yin X. et al. Hippocampal phosphorylated tau induced cognitive decline, dendritic spine loss and mitochondrial abnormalities in a mouse model of Alzheimer's disease // *Hum Mol Genet.* – 2018. – Vol. 27, Issue 1. – P. 30-40.

61 Selfridge J.E. et al. Role of mitochondrial homeostasis and dynamics in Alzheimer's disease // *Neurobiol Dis.* – 2013. – Vol. 51. – P. 3-12.

62 de Calignon A., Polydoro M., Suárez-Calvet M. et al. Propagation of tau pathology in a model of early Alzheimer's disease // *Neuron.* – 2012. – Vol. 73, Issue 4. – P. 685-697.

63 Muralidar S., Ambi S.V., Sekaran S. et al. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player // *Int J Biol Macromol.* – 2020. – Vol. 163. – P. 1599-1617.

64 Medeiros R. et al. The role of tau in Alzheimer's disease and related disorders // *CNS Neurosci Ther.* – 2011. – Vol. 17, Issue 5. – P. 514-524.

65 Shafiei S.S. et al. Tau Oligomers: Cytotoxicity, Propagation, and Mitochondrial Damage // *Front Aging Neurosci.* – 2017. – Vol. 9. – P. 83-1-83-9.

- 66 Aschenbrenner A.J. et al. Influence of tau PET, amyloid PET, and hippocampal volume on cognition in Alzheimer disease // *Neurology*. – 2018. – Vol. 91, Issue 9. – P. e859-e66.
- 67 Sperling R.A., Mormino E.C., Schultz A.P. et al. The impact of amyloid-beta and tau on prospective cognitive decline in older individuals // *Ann Neurol*. – 2019. – Vol. 85, Issue 2. – P. 181-193.
- 68 Hanseeuw B.J., Betensky R.A., Jacobs H.I.L. et al. Association of Amyloid and Tau With Cognition in Preclinical Alzheimer Disease: A Longitudinal Study // *JAMA Neurol*. – 2019. – Vol. 76, Issue 8. – P. 915-924.
- 69 Soto C. In vivo spreading of tau pathology // *Neuron*. – 2012. – Vol. 73, Issue 4. – P. 621-623.
- 70 Braak H., Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes // *Acta Neuropathol*. – 1991. – Vol. 82, Issue 4. – P. 239-259.
- 71 Mielke M.M. Sex and Gender Differences in Alzheimer's Disease Dementia // *Psychiatr Times*. – 2018. – Vol. 35, Issue 11. – P. 14-17.
- 72 Viña J., Lloret A. Why women have more Alzheimer's disease than men: gender and mitochondrial toxicity of amyloid-beta peptide // *J Alzheimers Dis*. – 2010. – Vol. 20, Suppl 2. – P. S527-S533.
- 73 Liu L., Zhang C., Lv X. et al. Sex-specific associations between lipids and cognitive decline in the middle-aged and elderly: a cohort study of Chinese adults // *Alzheimer's Research & Therapy*. – 2020. – Vol. 12, Issue 1. – P. 164-1-164-13.
- 74 Nägga K., Gustavsson A.M., Stomrud E. et al. Increased midlife triglycerides predict brain β -amyloid and tau pathology 20 years later // *Neurology*. – 2018. – Vol. 90, Issue 1. – P. e73-e81.
- 75 Russ T.C., Batty G.D., Hearnshaw G.F. et al. Geographical variation in dementia: systematic review with meta-analysis // *Int J Epidemiol*. – 2012. – Vol. 41, Issue 4. – P. 1012-1032.
- 76 Matyas N. et al. Continuing education for the prevention of mild cognitive impairment and Alzheimer's-type dementia: a systematic review and overview of systematic reviews // *BMJ Open*. – 2019. – Vol. 9, Issue 7. – P. e027719.
- 77 Andrews S.J., Fulton-Howard B., O'Reilly P. et al. Causal Associations Between Modifiable Risk Factors and the Alzheimer's Phenome // *Ann Neurol*. – 2021. – Vol 89, Issue 1. – P. 54-65.
- 78 Najjar J., Östling S., Gudmundsson P. et al. Cognitive and physical activity and dementia: A 44-year longitudinal population study of women // *Neurology*. – 2019. – Vol. 92, Issue 12. – P. e1322-e1330.
- 79 Wada M., Noda Y., Shinagawa S. et al. Effect of Education on Alzheimer's Disease-Related Neuroimaging Biomarkers in Healthy Controls, and Participants with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Cross-Sectional Study // *J Alzheimers Dis*. – 2018. – Vol. 63, Issue 2. – P. 861-869.
- 80 Khalaila R., Dintica C., Yaffe K. The Association Between Cognitive Reserve and Cognitive Trajectories Among Older Adults // *Innov Aging*. – 2024. – Vol. 8, Issue 2. – P. igae014.

81 Kishimoto H., Ohara T., Hata J. et al. The long-term association between physical activity and risk of dementia in the community: the Hisayama Study // *Eur J Epidemiol.* – 2016. – Vol. 31, Issue 3. – P. 267-274.

82 Guadagni V., Drogos L.L., Tyndall A.V. et al. Aerobic exercise improves cognition and cerebrovascular regulation in older adults // *Neurology.* – 2020. – Vol. 94, Issue 21. – P. e2245-e2257.

83 Firth J., Stubbs B., Vancampfort D. et al. Effect of aerobic exercise on hippocampal volume in humans: A systematic review and meta-analysis // *Neuroimage.* – 2018. – Vol. 166. – P. 230-238.

84 Zhong G., Wang Y., Zhang Y. et al. Smoking is associated with an increased risk of dementia: a meta-analysis of prospective cohort studies with investigation of potential effect modifiers // *PLoS One.* - 2015. – Vol. 10, Issue 3. – P. e0118333.

85 Durazzo T.C., Mattsson N., Weiner M.W. Smoking and increased Alzheimer's disease risk: a review of potential mechanisms // *Alzheimers Dement.* – 2014. – Vol. 10, Suppl 3. – P. S122-S145.

86 Barnes D.E., Haight T.J., Mehta K.M. et al. Secondhand smoke, vascular disease, and dementia incidence: findings from the cardiovascular health cognition study // *Am J Epidemiol.* – 2010. – Vol. 171, Issue 3. – P. 292-302.

87 Cataldo J.K., Prochaska J.J., Glantz S.A. Cigarette smoking is a risk factor for Alzheimer's Disease: an analysis controlling for tobacco industry affiliation // *J Alzheimers Dis.* – 2010. – Vol. 19, Issue 2. – P. 465-480.

88 Otuyama L.J., Oliveira D., Locatelli D. et al. Tobacco smoking and risk for dementia: evidence from the 10/66 population-based longitudinal study // *Aging Ment Health.* – 2020. – Vol. 24, Issue 11. – P. 1796-1806.

89 Morris M.C., Tangney C.C., Wang Y. et al. MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease // *Alzheimers Dement.* – 2015. – Vol. 11, Issue 9. – P. 1007-1014.

90 Weiser M.J. et al. Docosahexaenoic Acid and Cognition throughout the Lifespan // *Nutrients.* – 2016. – Vol. 8, Issue 2. – P. 99-1-99-40.

91 Daviglius M.L., Bell C.C., Berrettini W. et al. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference statement: preventing alzheimer disease and cognitive decline // *Ann Intern Med.* – 2010. – Vol. 153, Issue 3. – P. 176-181.

92 Xue M., Xu W., Ou Y.N. et al. Diabetes mellitus and risks of cognitive impairment and dementia: A systematic review and meta-analysis of 144 prospective studies // *Ageing Res Rev.* – 2019. – Vol. 55. – P. 100944.

93 Abner E.L., Nelson P.T., Kryscio R.J. et al. Diabetes is associated with cerebrovascular but not Alzheimer's disease neuropathology // *Alzheimers Dement.* – 2016. – Vol. 12, Issue 8. – P. 882-889.

94 Sierra C. Hypertension and the Risk of Dementia // *Front Cardiovasc Med.* – 2020. – Vol. 7. – P. 5-1-5-7.

95 Warnert E.A., Rodrigues J.C., et al. Is High Blood Pressure Self-Protection for the Brain? // *Circ Res.* – 2016. – Vol. 119, Issue 12. – P. e140-e151.

96 Chew H., Solomon V.A., Fonteh A.N. Involvement of Lipids in Alzheimer's Disease Pathology and Potential Therapies // *Front Physiol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 598-1-598-28.

97 Schilling S., Tzourio C., Soumaré A. et al. Differential associations of plasma lipids with incident dementia and dementia subtypes in the 3C Study: A longitudinal, population-based prospective cohort study // *PLoS Med.* – 2017. – Vol. 14, Issue 3. – P. e1002265.

98 Svensson T., Sawada N., Mimura M. et al. The association between midlife serum high-density lipoprotein and mild cognitive impairment and dementia after 19 years of follow-up. *Transl Psychiatry.* – 2019. – Vol. 9, Issue 1. – P. 26-1-26-9.

99 Zhou J., Yu J.T., Wang H.F. et al. Association between stroke and Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis // *J Alzheimers Dis.* – 2015. – Vol. 43, Issue 2. – P. 479-489.

100 Tolppanen A.M., Ngandu T., Kåreholt I. et al. Midlife and late-life body mass index and late-life dementia: results from a prospective population-based cohort // *J Alzheimers Dis.* – 2014. – Vol. 38, Issue 1. – P. 201-209.

101 Sun Z., Wang Z.T., Sun F.R. et al. Late-life obesity is a protective factor for prodromal Alzheimer's disease: a longitudinal study // *Aging (Albany NY).* – 2020. – Vol. 12, Issue 2. – P. 2005-2017.

102 Blennow K., Brody D.L., Kochanek P.M. et al. Traumatic brain injuries // *Nat Rev Dis Primers.* – 2016. – Vol. 2. – P. 16084.

103 Washington P.M., Villapol S., Burns M.P. Polypathology and dementia after brain trauma: Does brain injury trigger distinct neurodegenerative diseases, or should they be classified together as traumatic encephalopathy? // *Exp Neurol.* – 2016. – Vol. 275, Pt 3(03). – P. 381-388.

104 Mendez M.F. What is the Relationship of Traumatic Brain Injury to Dementia? // *J Alzheimers Dis.* – 2017. – Vol. 57, Issue 3. – P. 667-681.

105 Crane P.K., Gibbons L.E. et al. Association of Traumatic Brain Injury With Late-Life Neurodegenerative Conditions and Neuropathologic Findings // *JAMA Neurol.* – 2016. – Vol. 73, Issue 9. – P. 1062-1069.

106 Weiner M.W., Crane P.K., Montine T.J. et al. Traumatic brain injury may not increase the risk of Alzheimer disease // *Neurology.* – 2017. – Vol. 89, Issue 18. – P. 1923-1925.

107 Fann J.R., Ribe A.R. et al. Long-term risk of dementia among people with traumatic brain injury in Denmark: a population-based observational cohort study // *Lancet Psychiatry.* – 2018. – Vol. 5, Issue 5. – P. 424-431.

108 Nordström A., Nordström P. Traumatic brain injury and the risk of dementia diagnosis: A nationwide cohort study // *PLoS Med.* – 2018. – Vol. 15, Issue 1. – P. e1002496.

109 Bartels C., Wagner M., Wolfsgruber S. et al. Impact of SSRI Therapy on Risk of Conversion From Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Dementia in Individuals With Previous Depression // *Am J Psychiatry.* – 2018. – Vol. 175, Issue 3. – P. 232-241.

- 110 Singh-Manoux A., Dugravot A., Fournier A. et al. Trajectories of Depressive Symptoms Before Diagnosis of Dementia: A 28-Year Follow-up Study // *JAMA Psychiatry*. – 2017. – Vol. 74, Issue 7. – P. 712-718.
- 111 Sindi S., Hagman G., Håkansson K. et al. Midlife Work-Related Stress Increases Dementia Risk in Later Life: The CAIDE 30-Year Study // *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*. – 2017. – Vol. 72, Issue 6. – P. 1044-1053.
- 112 Ouane S., Popp J. High Cortisol and the Risk of Dementia and Alzheimer's Disease: A Review of the Literature // *Front Aging Neurosci*. – 2019. – Vol. 11. – P. 43-1-43-11.
- 113 Tamagno E., Guglielmotto M., Vasciaveo V. et al. Oxidative Stress and Beta Amyloid in Alzheimer's Disease. Which Comes First: The Chicken or the Egg? // *Antioxidants (Basel)*. – 2021. – Vol. 10, Issue 9. – P. 1479-1-1479-15.
- 114 Sáiz-Vázquez O., Gracia-García P., Ubillos-Landa S. et al. Depression as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: A Systematic Review of Longitudinal Meta-Analyses // *J Clin Med*. – 2021. – Vol. 10, Issue 9. – P. 1809-1-1809-16.
- 115 Wallensten J., Ljunggren G., Nager A. et al. Stress, depression, and risk of dementia – a cohort study in the total population between 18 and 65 years old in Region Stockholm // *Alzheimer's Research & Therapy*. – 2023. – Vol. 15, Issue 1. – P. 161-1-161-13.
- 116 Bergantin L.B. The Interactions Between Alzheimer's Disease and Major Depression: Role of Ca(2+) Channel Blockers and Ca(2+)/cAMP Signalling // *Curr Drug Res Rev*. – 2020. – Vol. 12, Issue 2. – P. 97-102.
- 117 Nho K., Kueider-Paisley A., Ahmad S. et al. Association of Altered Liver Enzymes With Alzheimer Disease Diagnosis, Cognition, Neuroimaging Measures, and Cerebrospinal Fluid Biomarkers // *JAMA Netw Open*. – 2019. – Vol. 2, Issue 7. – P. e197978.
- 118 Li W., Yue L., Sun L. et al. An Increased Aspartate to Alanine Aminotransferase Ratio Is Associated With a Higher Risk of Cognitive Impairment // *Front Med (Lausanne)*. – 2022. – Vol. 9. – P. 780174.
- 119 Botros M., Sikaris K.A. The de ritis ratio: the test of time // *Clin Biochem Rev*. – 2013. – Vol. 34, Issue 3. – P. 117-130.
- 120 Pietzner M., Budde K., Homuth G. et al. Hepatic Steatosis Is Associated With Adverse Molecular Signatures in Subjects Without Diabetes // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2018. – Vol. 103, Issue 10. – P. 3856-3868.
- 121 Crane P.K., Walker R., Hubbard R.A. et al. Glucose levels and risk of dementia // *N Engl J Med*. – 2013. – Vol. 369, Issue 6. - P. 540-548.
- 122 Zheng F., Yan L., Yang Z. et al. HbA(1c), diabetes and cognitive decline: the English Longitudinal Study of Ageing // *Diabetologia*. – 2018. – Vol. 61, Issue 4. – P. 839-848.
- 123 Lee H.J., Seo H.I., Cha H.Y. et al. Diabetes and Alzheimer's Disease: Mechanisms and Nutritional Aspects // *Clin Nutr Res*. – 2018. – Vol. 7, Issue 4. – P. 229-240.
- 124 Xu C., Apostolova L.G., Oblak A.L. et al. Association of Hypercholesterolemia with Alzheimer's Disease Pathology and Cerebral Amyloid Angiopathy // *J Alzheimers Dis*. – 2020. – Vol. 73, Issue 4. – P. 1305-1311.

- 125 Linton M.F., Yancey P.G., Davies S.S. et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis // <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books>. 10.10.2024.
- 126 Kerrisk M.E., Cingolani L.A., Koleske A.J. ECM receptors in neuronal structure, synaptic plasticity, and behavior // *Prog Brain Res.* – 2014. – Vol. 214. – P. 101-131.
- 127 Wingo A.P. et al. LDL cholesterol is associated with higher AD neuropathology burden independent of APOE // *J. NeurolNeurosurg Psychiatry.* – 2022. – Vol. 93, Issue 9. – P. 930-938.
- 128 Wu Y., Wang Z. et al. Prediction of Alzheimer's disease with serum lipid levels in Asian individuals: a meta-analysis // *Biomarkers.* – 2019. – Vol. 24, Issue 4. – P. 341-351.
- 129 Borén J., Chapman M.J., Krauss R.M. et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel // *Eur Heart J.* – 2020. – Vol. 41, Issue 24. – P. 2313-2330.
- 130 Kuo Y.M., Emmerling M.R., Bisgaier C.L. et al. Elevated low-density lipoprotein in Alzheimer's disease correlates with brain abeta 1-42 levels // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1998. – Vol. 252, Issue 3. – P. 711-715.
- 131 Kjeldsen E.W., Thomassen J.Q. et al. Plasma high-density lipoprotein cholesterol and risk of dementia: observational and genetic studies // *Cardiovasc Res.* – 2022. – Vol. 118, Issue 5. – P. 1330-1343.
- 132 Kao Y.C., Ho P.C., Tu Y.K. et al. Lipids and Alzheimer's Disease // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, Issue 4. – P. 1505-1-1505-37.
- 133 Nordestgaard L.T., Christoffersen M., Afzal S. et al. Triglycerides as a Shared Risk Factor between Dementia and Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Study of 125 727 Individuals // *Clin Chem.* – 2021. – Vol. 67, Issue 1. – P. 245-255.
- 134 Leszek J., Mikhaylenko E.V., Belousov D.M. et al. The Links between Cardiovascular Diseases and Alzheimer's Disease // *Curr Neuropharmacol.* – 2021. – Vol. 19, Issue 2. – P. 152-169.
- 135 Wang H.L., Wang Y.Y., Liu X.G. et al. Cholesterol, 24-Hydroxycholesterol, and 27-Hydroxycholesterol as Surrogate Biomarkers in Cerebrospinal Fluid in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis // *J Alzheimers Dis.* – 2016. – Vol. 51, Issue 1. – P. 45-55.
- 136 Dimache A.M., Salaru D.L., Sascau R. et al. The Role of High Triglycerides Level in Predicting Cognitive Impairment: A Review of Current Evidence // *Nutrients.* – 2021. – Vol. 13, Issue 6. – P. 2118-1-2118-13.
- 137 Lee L.L., Aung H.H., Wilson D.W. et al. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis products increase blood-brain barrier transfer coefficient and induce astrocyte lipid droplets and cell stress // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2017. – 312, Issue 4. – P. C500-C516.
- 138 Kinney J.W., Bemiller S.M., Murtishaw A.S. et al. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease // *Alzheimers Dement (NY).* – 2018. – Vol. 4. – P. 575-590.

- 139 Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release // *Physiol Rev.* – 2014. – Vol. 94, Issue 3. – P. 909-950.
- 140 Rubio-Perez J.M., Morillas-Ruiz J.M. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines // *Scientific World Journal.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 756357-1-756357-15.
- 141 Lull M.E., Block M.L. Microglial activation and chronic neurodegeneration // *Neurotherapeutics.* – 2010. – Vol. 7, Issue 4. – P. 354-365.
- 142 Cao W., Zheng H. Peripheral immune system in aging and Alzheimer's disease // *Mol Neurodegener.* – 2018. – Vol. 13, Issue 1. – P. 51-1-51-17.
- 143 Ogunmokun G., Dewanjee S., Chakraborty P. et al. The Potential Role of Cytokines and Growth Factors in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease // *Cells.* – 2021. – Vol. 10, Issue 10. – P. 2790-1-2790-27.
- 144 Mochan E., Segó T.J., Ermentrout B. Age-Related Changes to the Immune System Exacerbate the Inflammatory Response to Pandemic H1N1 Infection // *Bull Math Biol.* – 2022. – Vol. 84, Issue 8. - P. 88-1-88-25.
- 145 Zhang J.M., An J. Cytokines, inflammation, and pain // *Int Anesthesiol Clin.* – 2007. – Vol. 45, Issue 2. – P. 27-37.
- 146 Wang W.Y., Tan M.S., Yu J.T. et al. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in Alzheimer's disease // *Ann Transl Med.* – 2015. – Vol. 3, Issue 10. – P. 136-1-136-15.
- 147 Cai Y., Liu J., Wang B. et al. Microglia in the Neuroinflammatory Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Related Therapeutic Targets // *Front Immunol.* – 2022. – Vol. 13. – P. 856376.
- 148 Neto F.L., Borges G., Torres-Sanchez S. et al. Neurotrophins role in depression neurobiology: a review of basic and clinical evidence // *Curr Neuropharmacol.* – 2011. – Vol. 9, Issue 4. – P. 530-552.
- 149 Koyama A., O'Brien J., Weuve J. et al. The role of peripheral inflammatory markers in dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* – 2013. – Vol. 68, Issue 4. – P. 433-440.
- 150 Pisani A., Paciello F., Del Vecchio V. et al. The Role of BDNF as a Biomarker in Cognitive and Sensory Neurodegeneration // *Journal of Personalized Medicine.* – 2023. – Vol. 13, Issue 4. – P. 652-1-652-25.
- 151 Maciel-Fiuza M.F., Muller G.C., Campos D.M.S. et al. Role of gut microbiota in infectious and inflammatory diseases // *Front Microbiol.* – 2023. – Vol. 14. – P. 1098386.
- 152 Sochocka M.S. et al. The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review // *Mol Neurobiol.* – 2019. – Vol. 56, Issue 3. – P. 1841-1851.
- 153 Kang D.J., Betrapally N.S., Ghosh S.A. et al. Gut microbiota drive the development of neuroinflammatory response in cirrhosis in mice // *Hepatology.* – 2016. – Vol. 64, Issue 4. – P. 1232-1248.
- 154 Liu Y., Ho R.C., Mak A. Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- α) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with

major depressive disorder: a meta-analysis and meta-regression // *J Affect Disord.* – 2012. – Vol. 139, Issue 3. – P. 230-239.

155 Cooper J., Pastorello Y., Slevin M. A meta-analysis investigating the relationship between inflammation in autoimmune disease, elevated CRP, and the risk of dementia // *Front Immunol.* – 2023. – Vol. 14. – P. 1087571.

156 Gong C., Wei D., Wang Y. et al. A Meta-Analysis of C-Reactive Protein in Patients With Alzheimer's Disease // *Am J Alzheimers Dis Other Dement.* – 2016. – Vol. 31, Issue 3. – P. 194-200.

157 Kritikos M., Clouston S.A.P., Diminich E.D. et al. Pathway Analysis for Plasma β -Amyloid, Tau and Neurofilament Light (ATN) in World Trade Center Responders at Midlife // *Neurol Ther.* – 2020. – Vol. 9, Issue 1. – P. 159-171.

158 Tao Q., Alvin Ang T.F., Akhter-Khan S.C. et al. Impact of C-Reactive Protein on Cognition and Alzheimer Disease Biomarkers in Homozygous APOE ϵ 4 Carriers // *Neurology.* – 2021. – Vol. 97, Issue 12. – P. e1243-e1252.

159 Tao Q., Ang T.F.A., DeCarli C. et al. Association of Chronic Low-grade Inflammation With Risk of Alzheimer Disease in ApoE4 Carriers // *JAMA Netw Open.* – 2018. – Vol. 1, Issue 6. - P. e183597.

160 Noble J.M., Manly J.J., Schupf N. et al. Association of C-reactive protein with cognitive impairment // *Arch Neurol.* – 2010. – Vol. 67, Issue 1. – P. 87-92.

161 Supiyev A., Karlsson R., Wang Y. et al. Independent role of Alzheimer's disease genetics and C-reactive protein on cognitive ability in aging // *Neurobiol Aging.* – 2023. – Vol. 126. – P. 103-112.

162 Strang F., Scheichl A., Chen Y.C. et al. Amyloid plaques dissociate pentameric to monomeric C-reactive protein: a novel pathomechanism driving cortical inflammation in Alzheimer's disease? // *Brain Pathol.* – 2012. – Vol. 22, Issue 3. – P. 337-346.

163 Wersching H., Duning T., Lohmann H. et al. Serum C-reactive protein is linked to cerebral microstructural integrity and cognitive function // *Neurology.* – 2010. – Vol. 74, Issue 13. – P. 1022-1029.

164 Mouliou D.S. C-Reactive Protein: Pathophysiology, Diagnosis, False Test Results and a Novel Diagnostic Algorithm for Clinicians // *Diseases.* – 2023. – Vol. 11, Issue 4. – P. 132-1-132-126.

165 Swardfager W., Lanctôt K., Rothenburg L. et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease // *Biol Psychiatry.* – 2010. – Vol. 68, Issue 10. – P. 930-941.

166 Dinarello C.A. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity // *Immunol Rev.* – 2018. – Vol. 281, Issue 1. – P. 8-27.

167 Shateri S., Khatami S.H., Haghbin Toutouchi A. et al. Plasma cytokines profile in patients with Alzheimer's and Parkinson's Disease: a comparative study in terms of inflammation // *Int J Neurosci.* – 2023. – Vol. 8. – P. 1-10.

168 Yang H.S., Zhang C., Carlyle B.C. et al. Plasma IL-12/IFN- γ axis predicts cognitive trajectories in cognitively unimpaired older adults // *Alzheimers Dement.* – 2022. – Vol. 18, Issue 4. – P. 645-653.

- 169 Leavitt C., Zakai N.A., Auer P. et al. Interferon gamma-induced protein 10 (IP-10) and cardiovascular disease in African Americans // *PLoS One*. – 2020. – Vol. 15, Issue 4. – P. e0231013.
- 170 Ausó E., Gómez-Vicente V., Esquivá G. Biomarkers for Alzheimer's Disease Early Diagnosis // *J Pers Med*. – 2020. – Vol. 10, Issue 3. – P. 114-1-114-26.
- 171 Zhou F., Sun Y., Xie X. et al. Blood and CSF chemokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis // *Alzheimers Res Ther*. – 2023. – Vol. 15, Issue 1. – P. 107-1-107-19.
- 172 Belmonte M., Cabrera-Cosme L., Øbro N.F. et al. Increased CXCL10 (IP-10) associates with advanced myeloproliferative neoplasms and its loss dampens erythrocytosis in mouse models // *Exp Hematol*. – 2024. – Vol. 135. – P. 104246.
- 173 Wang H., Zong Y., Zhu L. et al. Chemokines in patients with Alzheimer's disease: A meta-analysis // *Front Aging Neurosci*. – 2023. – Vol. 15. – P. 1047810.
- 174 Carlini V., Noonan D.M. et al. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions // *Front Immunol*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1161067.
- 175 Bell M., Gottschalk S. Engineered Cytokine Signaling to Improve CAR T Cell Effector Function // *Front Immunol*. – 2021. – Vol. 12. – P. 684642.
- 176 Porro C. et al. The Regulatory Role of IL-10 in Neurodegenerative Diseases // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, Issue 7. – P. 1017-1-1071-15.
- 177 Morikawa M., Derynck R., Miyazono K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2016. – Vol. 8, Issue 5. – P. a021873.
- 178 Raschick M., Richter A., Fischer L. et al. Plasma concentrations of anti-inflammatory cytokine TGF- β are associated with hippocampal structure related to explicit memory performance in older adults // *J Neural Transm (Vienna)*. – 2023. – Vol. 130, Issue 8. – P. 989-1002.
- 179 Delaby C., Gabelle A., Blum D. et al. Central Nervous System and Peripheral Inflammatory Processes in Alzheimer's Disease: Biomarker Profiling Approach // *Front Neurol*. – 2015. – Vol. 6. – P. 181-1-181-11.
- 180 Hamsten C., Häggmark A., Grundström J. et al. Protein profiles of CCL5, HPGDS and NPSR1 in plasma reveal association to childhood asthma // *Allergy*. – 2016. – Vol. 71, Issue 9. – P. 1357-1361.
- 181 Wojcieszak J., Kuczyńska K., Zawilska J.B. Role of Chemokines in the Development and Progression of Alzheimer's Disease // *J Mol Neurosci*. – 2022. – Vol. 72, Issue 9. – P. 1929-1951.
- 182 Ma W. et al. The intricate role of CCL5/CCR5 axis in Alzheimer disease // *J Neuropathol Exp Neurol*. – 2023. – Vol. 82, Issue 11. – P. 894-900.
- 183 Funa K., Sasahara M. The roles of PDGF in development and during neurogenesis in the normal and diseased nervous system // *J Neuroimmune Pharmacol*. – 2014. – Vol. 9, Issue 2. – P. 168-181.
- 184 Sil S., Periyasamy P., Thangaraj A. et al. PDGF/PDGFR axis in the neural systems // *Mol Aspects Med*. – 2018. – Vol. 62. – P. 63-74.

185 Chen S., Chen S.-T., Sun Y. et al. Fibroblast growth factor 21 ameliorates neurodegeneration in rat and cellular models of Alzheimer's disease // *Redox biology*. – 2019. – Vol. 22. – P. 101133.

186 Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project Consortium // *Nature*. – 2012. – Vol. 486, Issue 7402. – P. 207-214.

187 Larroya-García A., Navas-Carrillo D., Orenes-Piñero E. Impact of gut microbiota on neurological diseases: Diet composition and novel treatments // *Crit Rev Food Sci Nutr*. – 2019. – Vol. 59, Issue 19. – P. 3102-3116.

188 Westfall S., Lomis N., Kahouli I. et al. Microbiome, probiotics and neurodegenerative diseases: deciphering the gut brain axis // *Cell Mol Life Sci*. – 2017. – Vol. 74, Issue 20. – P. 3769-3787.

189 Kowalski K., Mulak A. Brain-Gut-Microbiota Axis in Alzheimer's Disease // *J Neurogastroenterol Motil*. – 2019. – Vol. 25, Issue 1. – P. 48-60.

190 Vogt N.M., Kerby R.L. et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7, Issue 1. – P. 13537-1-13537-11.

191 Grant W.B. Trends in diet and Alzheimer's disease during the nutrition transition in Japan and developing countries // *J Alzheimers Dis*. – 2014. – Vol. 38, Issue 3. – P. 611-620.

192 Carabotti M., Scirocco A., Maselli M.A. et al. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems // *Ann Gastroenterol*. – 2015. – Vol. 28, Issue 2. – P. 203-209.

193 Burokas A., Moloney R.D., Dinan T.G. et al. Microbiota regulation of the Mammalian gut-brain axis // *Adv Appl Microbiol*. – 2015. – Vol. 91. – P. 1-62.

194 Petra A.I., Panagiotidou S., Hatziagelaki E. et al. Gut-Microbiota-Brain Axis and Its Effect on Neuropsychiatric Disorders With Suspected Immune Dysregulation // *Clin Ther*. – 2015. – Vol. 37, Issue 5. – P. 984-995.

195 Gareau M.G. Microbiota-gut-brain axis and cognitive function // *Adv Exp Med Biol*. – 2014. – Vol. 817. – P. 357-371.

196 Jiang C., Li G., Huang P. et al. The Gut Microbiota and Alzheimer's Disease // *J Alzheimers Dis*. – 2017. – Vol. 58, Issue 1. – P. 1-15.

197 Michalski B., Corrada M.M., Kawas C.H. et al. Brain-derived neurotrophic factor and TrkB expression in the "oldest-old," the 90+ Study: correlation with cognitive status and levels of soluble amyloid-beta // *Neurobiol Aging*. – 2015. – Vol. 36, Issue 12. – P. 3130-31369.

198 Gareau M.G., Wine E., Rodrigues D.M. et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice // *Gut*. – 2011. – Vol. 60, Issue 3. – P. 307-317.

199 Wang T., Hu X., Liang S. et al. *Lactobacillus fermentum* NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats // *Benef Microbes*. – 2015. – Vol. 6, Issue 5. – P. 707-717.

200 Liang S., Wang T., Hu X., Luo J. et al. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress // *Neuroscience*. – 2015. – Vol. 310. – P. 561-577.

201 Luo J., Wang T., Liang S. et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain reduces anxiety and improves cognitive function in the hyperammonemia rat // *Sci China Life Sci.* – 2014. – 57, Issue 3. – P. 327-335.

202 Savignac H.M. et al. Bifidobacteria modulate cognitive processes in an anxious mouse strain // *Behav Brain Res.* – 2015. – Vol. 287. – P. 59-72.

203 Harach T., Marungruang N., Duthilleul N. et al. Reduction of Aβ amyloid pathology in APPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 41802-1-41802-13.

204 Cattaneo A., Cattane N., Galluzzi S. et al. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly // *Neurobiol Aging.* – 2017. – Vol. 49. – P. 60-68.

205 Zhuang Z.Q., Shen L.L., Li W.W. et al. Gut Microbiota is Altered in Patients with Alzheimer's Disease // *J Alzheimers Dis.* – 2018. – Vol. 63, Issue 4. – P. 1337-1346.

206 Liu P., Wu L., Peng G. et al. Altered microbiomes distinguish Alzheimer's disease from amnesic mild cognitive impairment and health in a Chinese cohort // *Brain, behavior and immunity.* – 2019. – Vol. 80. – P. 633-643.

207 Lozupone C.A., Stombaugh J.I., Gordon J.I. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota // *Nature.* – 2012. – Vol. 489, Issue 7415. – P. 220-230.

208 Salazar N., Valdés-Varela L., González S. et al. Nutrition and the gut microbiome in the elderly // *Gut Microbes.* – 2017. – Vol. 8, Issue 2. – P. 82-97.

209 Nagpal R., Mainali R., Ahmadi S. et al. Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights // *Nutr Healthy Aging.* – 2018. – Vol. 4, Issue 4. – P. 267-285.

210 Walrath T., Dyamenahalli K.U., Hulsebus H.J. et al. Age-related changes in intestinal immunity and the microbiome // *J Leukoc Biol.* – 2021. – Vol. 109, Issue 6. – P. 1045-1061.

211 Park S.H., Kim K.A., Ahn Y.T. et al. Comparative analysis of gut microbiota in elderly people of urbanized towns and longevity villages // *BMC Microbiol.* – 2015. – Vol. 15. – P. 49-1-49-9.

212 Askarova S., Umbayev B., Masoud A.R. et al. The Links Between the Gut Microbiome, Aging, Modern Lifestyle and Alzheimer's Disease // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. – Vol. 10. – P. 104-1-104-12.

213 Junges V.M., Closs V.E., Nogueira G.M. et al. Crosstalk between Gut Microbiota and Central Nervous System: A Focus on Alzheimer's Disease // *Curr Alzheimer Res.* – 2018. – Vol. 15, Issue 13. – P. 1179-1190.

214 Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota // *Brain Res.* – 2018. – Vol. 1693, Pt B. – P. 128-133.

215 La-Ongkham O., Nakphaichit M., Nakayama J. et al. Age-related changes in the gut microbiota and the core gut microbiome of healthy Thai humans // *3 Biotech.* – 2020. – Vol. 10, Issue 6. – P.276-1-276-14.

216 Salazar J., Durán P., Díaz M.P. et al. Exploring the Relationship between the Gut Microbiota and Ageing: A Possible Age Modulator // *Int J Environ Res Public Health.* – 2023. – Vol. 20, Issue 10. – P. 5845-1-5845-24.

- 217 Grant W.B. Using Multicountry Ecological and Observational Studies to Determine Dietary Risk Factors for Alzheimer's Disease // *J Am Coll Nutr.* – 2016. – Vol. 35, Issue 5. – P. 476-489.
- 218 Noble E.E., Hsu T.M., Kanoski S.E. Gut to Brain Dysbiosis: Mechanisms Linking Western Diet Consumption, the Microbiome, and Cognitive Impairment // *Front Behav Neurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 9-1-9-10.
- 219 Dodge H.H., Buracchio T.J., Fisher G.G. et al. Trends in the prevalence of dementia in Japan // *Int J Alzheimers Dis.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 956354.
- 220 Nam K.N., Mounier A., Wolfe C.M. et al. Effect of high fat diet on phenotype, brain transcriptome and lipidome in Alzheimer's model mice // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7, Issue 1. – P. 4307-1-4307-13.
- 221 Sah S.K., Lee C., Jang J.H. et al. Effect of high-fat diet on cognitive impairment in triple-transgenic mice model of Alzheimer's disease // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2017. – Vol. 493, Issue 1. – P. 731-736.
- 222 Sanguinetti E., Collado M.C., Marrachelli V.G. et al. Microbiome-metabolome signatures in mice genetically prone to develop dementia, fed a normal or fatty diet // *Sci Rep.* – 2018. – Vol. 8, Issue 1. – P. 4907-1-4907-13.
- 223 Tran L., Greenwood-Van Meerveld B. Age-associated remodeling of the intestinal epithelial barrier // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* – 2013. – Vol. 68, Issue 9. – P. 1045-1056.
- 224 Elahy M., Jackaman C., Mamo J.C. et al. Blood-brain barrier dysfunction developed during normal aging is associated with inflammation and loss of tight junctions but not with leukocyte recruitment // *Immun Ageing.* – 2015. – Vol. 12. – P. 2-1-2-9.
- 225 Evans M.L., Gichana E., Zhou Y. et al. Bacterial Amyloids // *Methods Mol Biol.* – 2018. – Vol. 1779. – P. 267-288.
- 226 Hufnagel D.A., Tükel C., Chapman M.R. Disease to dirt: the biology of microbial amyloids // *PLoS Pathog.* – 2013. – Vol. 9, Issue 11. – P. e1003740.
- 227 Schwartz K., Boles B.R. Microbial amyloids--functions and interactions within the host // *Curr Opin Microbiol.* – 2013. – Vol. 16, Issue 1. – P. 93-99.
- 228 Rapsinski G.J., Wynosky-Dolfi M.A., Oppong G.O. et al. Toll-like receptor 2 and NLRP3 cooperate to recognize a functional bacterial amyloid, curli // *Infect Immun.* – 2015. – Vol. 83, Issue 2. – P. 693-701.
- 229 Nishimori J.H., Newman T.N., Oppong G.O. et al. Microbial amyloids induce interleukin 17A (IL-17A) and IL-22 responses via Toll-like receptor 2 activation in the intestinal mucosa // *Infect Immun.* – 2012. – Vol. 80, Issue 12. – P. 4398-4408.
- 230 Perriard G, Mathias A, Enz L, Canales M, Schlupe M, Gentner M, et al. Interleukin-22 is increased in multiple sclerosis patients and targets astrocytes // *J Neuroinflammation.* – 2015. – Vol. 12. – P. 119-1-119-18.
- 231 Sun J., Zhang S. et al. IL-17A is implicated in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and cognitive impairment in aged rats via microglial activation // *J Neuroinflammation.* – 2015. – Vol. 12. – P. 165-1-165-12.

- 232 Chen S.G., Stribinskis V., Rane M.J. et al. Exposure to the Functional Bacterial Amyloid Protein Curli Enhances Alpha-Synuclein Aggregation in Aged Fischer 344 Rats and *Caenorhabditis elegans* // *Sci Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 34477.
- 233 Maldonado R.F., Sá-Correia I., Valvano M.A. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection // *FEMS Microbiol Rev.* – 2016. – Vol. 40, Issue 4. – P. 480-493.
- 234 Zhao Y., Jaber V., Lukiw W.J. Secretory Products of the Human GI Tract Microbiome and Their Potential Impact on Alzheimer's Disease (AD): Detection of Lipopolysaccharide (LPS) in AD Hippocampus // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 318-1-318-9.
- 235 Chesnokova V., Pechnick R.N., Wawrowsky K. Chronic peripheral inflammation, hippocampal neurogenesis, and behavior // *Brain Behav Immun.* – 2016. – Vol. 58. – P. 1-8.
- 236 Zhao Y., Lukiw W.J. Bacteroidetes Neurotoxins and Inflammatory Neurodegeneration // *Mol Neurobiol.* – 2018. – Vol. 55, Issue 12. – P. 9100-9107.
- 237 Bhattacharjee S., Zhao Y., Dua P. et al. microRNA-34a-Mediated Down-Regulation of the Microglial-Enriched Triggering Receptor and Phagocytosis-Sensor TREM2 in Age-Related Macular Degeneration // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, Issue 3. – P. e0150211.
- 238 Kahn M.S., Kranjac D., Alonzo C.A. et al. Prolonged elevation in hippocampal A β and cognitive deficits following repeated endotoxin exposure in the mouse // *Behav Brain Res.* – 2012. – Vol. 229, Issue 1. – P. 176-184.
- 239 Asti A., Gioglio L. Can a bacterial endotoxin be a key factor in the kinetics of amyloid fibril formation? // *Journal Alzheimers Dis.* – 2014. – Vol. 39, Issue 1. – P. 169-179.
- 240 Subramanian V.S., Teafatiller T., Agrawal A. et al. Effect of Lipopolysaccharide and TNF α on Neuronal Ascorbic Acid Uptake // *Mediators Inflamm.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 4157132.
- 241 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 // *Alzheimer's Dement.* – 2011. – Vol. 7, Issue 3. – P. 263-269.
- 242 Folstein M.F., Folstein S.E., McHugh P.R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician // *J Psychiatr Res.* – 1975. – Vol. 12, Issue 3. – P. 189-198.
- 243 R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. – Vienna, 2020. – 3356 p.
- 244 Wickham H. Welcome to the Tidyverse // <https://tidyverse.tidyverse.org/articles/paper.html>. 10.10.2024.
- 245 McMurdie P.J., Holmes S. phyloseq: an R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data // *Plos One.* – 2013. – Vol. 8, Issue 4. – P. e61217.
- 246 Shannon CEW, W. The Mathematical Theory of Communication. – Urbana: University of Illinois Press, 1949. – 131 p.

- 247 Simpson E.H. Measurement of Diversity // *Nature*. – 1949. – Vol. 163, Issue 4148. – P. 688-692.
- 248 Legendre P., Gallagher E.D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data // *Oecologia*. – 2001. – Vol. 129, Issue 2. – P. 271-280.
- 249 Hamady M., Lozupone C., Knight R. Fast UniFrac: facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data // *The ISME Journal*. – 2010. – Vol. 4, Issue 1. – P. 17-27.
- 250 Lozupone C., Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities // *Appl Environ Microbiol*. – 2005. – Vol. 71, Issue 12. – P. 8228-8235.
- 251 Aitchison J., Barceló-Vidal C., Martín-Fernández J.A. et al. Logratio analysis and compositional distance // *Math. Geol*. – 2000. – Vol. 32, Issue 3. – P. 271-275.
- 252 Segata, N. et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation // *Genome Biol*. – 2011. – Vol. 12, Issue 6. - R60-1-R60-18.
- 253 Mallick H.A.-O. et al. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies // *PLoS Comput. Biol*. – 2021. – Vol. 17, Issue 11. – P. e1009442.
- 254 Özkurt E., Fritscher J., Soranzo N. et al. LotuS2: an ultrafast and highly accurate tool for amplicon sequencing analysis // *Microbiome*. – 2022. – Vol. 10, Issue 1. – P. 176-1-176-14.
- 255 Douglas G.M., Maffei V.J., Zaneveld J.R. et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions // *Nat Biotechnol*. – 2020. – Vol. 38, Issue 6. – P. 685-688.
- 256 Caspi R., Billington R., Ferrer L. et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases // *Nucleic Acids Res*. – 2016. – Vol. 44(D1). – P. D471-D480.
- 257 Webers A., Heneka M.T., Gleeson P.A. The role of innate immune responses and neuroinflammation in amyloid accumulation and progression of Alzheimer's disease // *Immunol Cell Biol*. – 2020. – Vol. 98, Issue 1. – P. 28-41.
- 258 Haran J.P. et al. Alzheimer's disease microbiome is associated with dysregulation of the anti-inflammatory P-glycoprotein pathway // *mBio*. – 2019. – Vol. 10, Issue 3. – P. e00632-19-1-e00632-14.
- 259 Li B. et al. Mild cognitive impairment has similar alterations as Alzheimer's disease in gut microbiota // *Alzheimer's & Dementia*. – 2019. – Vol. 15, Issue 10. – P. 1357-1366.
- 260 Waters J.L., Ley R.E. The human gut bacteria Christensenellaceae are widespread, heritable, and associated with health // *BMC Biology*. – 2019. – Vol. 17, Issue 1. – P. 83-1-83-12.
- 261 Dalile B. et al. The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. – 2019. – Vol. 16, Issue 8. – P. 461-478.
- 262 Minois N. et al. Polyamines in aging and disease // *Aging (Albany NY)*. – 2011. – Vol. 3, Issue 8. – P. 716-732.

263 Bordoni, A., et al. Dairy products and inflammation: A review of the clinical evidence // *Critical reviews in food science and nutrition*. – 2013. – Vol. 57, Issue 12. – P. 2497-2525.

264 Vetvik K.G., MacGregor E.A. Sex differences in the epidemiology, clinical features, and pathophysiology of migraine // *The Lancet Neurology*. – 2017. – Vol. 16, Issue 1. – P. 76-87.

265 Lin C.H., Chen C.C., Chiang H.L. et al. Altered gut microbiota and inflammatory cytokine responses in patients with Parkinson's disease // *J Neuroinflammation*. – 2019. – Vol. 16, Issue 1. – P. 129-1-129-9.

266 Caspani G., Swann J. Small talk: microbial metabolites involved in the signaling from microbiota to brain // *Curr Opin Pharmacol*. – 2019. – Vol. 48. – P. 99-106.

267 Matey-Hernandez M.L., Williams F.M.K., Potter T. et al. Genetic and microbiome influence on lipid metabolism and dyslipidemia // *Physiol Genomics*. – 2018. – Vol. 50, Issue 2. – P. 117-126.

268 Wang Z., Koonen D., Hofker M. et al. Gut microbiome and lipid metabolism: from associations to mechanisms // *Curr Opin Lipidol*. – 2016. – Vol. 27, Issue 3. – P. 216-224.

269 Granado-Serrano A.B., Martín-Garí M. et al. Faecal bacterial and short-chain fatty acids signature in hypercholesterolemia // *Sci Rep*. – 2019. – Vol. 9, Issue 1. – P. 1772-1-1772-13.

270 Yao H., Fan C., Lu Y. et al. Alteration of gut microbiota affects expression of adiponectin and resistin through modifying DNA methylation in high-fat diet-induced obese mice // *Genes Nutr*. – 2020. – Vol. 15, Issue 1. – P. 12-1-12-14.

271 Peng Y., Zhang N., Li W.J. et al. Correlations of changes in inflammatory factors, glucose and lipid metabolism indicators and adiponectin with alterations in intestinal flora in rats with coronary heart disease // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2020. Vol. 24, Issue 19. – P. 10118-10125.

272 Chen Y., Meng P., Cheng S. et al. Assessing the effect of interaction between C-reactive protein and gut microbiome on the risks of anxiety and depression // *Mol Brain*. – 2021. – Vol. 14, Issue 1. – P. 133-1-133-8.

273 van den Munckhof I.C.L. et al. Role of gut microbiota in chronic low-grade inflammation as potential driver for atherosclerotic cardiovascular disease: a systematic review of human studies // *Obes Rev*. – 2018. – Vol. 19, Issue 12. – P. 1719-1734.

274 Qian X.H. et al. Mechanisms of Short-Chain Fatty Acids Derived from Gut Microbiota in Alzheimer's Disease // *Aging Dis*. – 2022. – Vol. 13, Issue 4. – P. 1252-1266.

275 Chen H., Meng L., Shen L. Multiple roles of short-chain fatty acids in Alzheimer disease // *Nutrition*. – 2022. – Vol. 93. – P. 111499.

276 Park J.C. et al. Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease: a brief review // *BMB Rep*. – 2020. – Vol. 53, Issue 1. – P. 10-19.

277 Dove A.A.-O. et al. Cardiometabolic multimorbidity and incident dementia: the Swedish twin registry // *Eur Heart J*. – 2023. – Vol. 44, Issue 7. – P. 573-582.

278 Dove A.A.-O et al. Cardiometabolic multimorbidity accelerates cognitive decline and dementia progression // *Alzheimers Dement.* – 2023. – Vol. 19, Issue 3. – P. 821-830.

279 Leko B.M. et al. IL-1 β , IL-6, IL-10, and TNF α Single Nucleotide Polymorphisms in Human Influence the Susceptibility to Alzheimer's Disease Pathology // *J Alzheimers Dis.* – 2020. – Vol. 75, Issue 3. – P. 1029-1047.

280 Culjak M. et al. The Association between TNF-alpha, IL-1 alpha and IL-10 with Alzheimer's Disease // *Curr Alzheimer.* – 2020. – Vol. 17, Issue 11. – P. 972-984.

281 Zhu Y. et al. Serum IL-8 is a marker of white-matter hyperintensities in patients with Alzheimer's disease // *Alzheimers Dement (Amst).* – 2017. – Vol. 23, Issue 7. – P. 41-47.

282 McLarnon J. Chemokine Interleukin-8 (IL-8) in Alzheimer's and Other Neurodegenerative Diseases // *J Alzheimers Dis Parkinsonism.* - 2016. – Vol. 6, Issue 5. – P. 273-1-273-5.

283 Doroszkiewicz J. et al. The cerebrospinal fluid interleukin 8 (IL-8) concentration in Alzheimer's disease (AD) // *Alzheimer's & Dementia.* - 2021. – Vol. 17, Issue S5. – P. e051317.

284 Sajjad M.U. et al. Cerebrospinal Fluid Levels of Interleukin-8 in Delirium, Dementia, and Cognitively Healthy Patients // *J Alzheimers Dis.* – 2020. – Vol. 73, Issue 4. – P. 1363-1372.

285 Wang S.-S. et al. The relationship between Alzheimer's disease and intestinal microflora structure and inflammatory factors // *Frontiers in Aging Neuroscience.* – 2022. – Vol. 14. – P. 972982.

286 Jayaswamy P.K. et al. Implicative role of epidermal growth factor receptor and its associated signaling partners in the pathogenesis of Alzheimer's disease // *Ageing Res Rev.* – 2023. – Vol. 83. – P. 101791.

287 Xi J. et al. Disturbed microbial ecology in Alzheimer's disease: evidence from the gut microbiota and fecal metabolome // *BMC Microbiology.* - 2021. – Vol. 21, Issue 1. – P. 226-1-226-13.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Заявления о согласии

Заявление о согласии

Я, _____,
_____, даю мое добровольное согласие на участие в этом исследовании.

Исследователи четко объяснили мне основную информацию и цели исследования и что включает в себя мое участие в этом исследовании.

Я понимаю, что мое участие в этом исследовании является добровольным. Я могу в любое время и без объяснения причин отозвать свое согласие, и это не будет иметь никаких негативных последствий для меня.

Я понимаю, что информация, собранная в ходе этого исследования, будет рассматриваться конфиденциально.

Участник или опекун участника:

Подпись _____ Дата _____

Исследователь:

Подпись _____ Дата _____

Заявление о согласии для опекуна

Я, _____
_____, даю добровольное согласие моей (моего) _____,
_____ на участие в этом исследовании.

Исследователи четко объяснили мне основную информацию и цели исследования и что включает в себя мое участие в этом исследовании.

Я понимаю, что участие в этом исследовании является добровольным. Я могу в любое время и без объяснения причин отозвать свое согласие, и это не будет иметь никаких негативных последствий для моей (моего) _____.

Я понимаю, что информация, собранная в ходе этого исследования, будет рассматриваться конфиденциально.

Подпись: _____ Дата _____

Исследователь:

Подпись _____ Дата _____