

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА НА РАННЕЙ СТАДИИ

Стюфляева Ю.К. (Университет ИТМО), **Зелинский А.А.** (Санкт-Петербургский государственный университет), **Научный руководитель - к.б.н., руководитель лаборатории биологии амилоидов, Рубель А.А.** (Санкт-Петербургский государственный университет)

Аннотация. Болезнь Альцгеймера (БА) - нейродегенеративное заболевание, составляет более 80% всех случаев возрастной деменции, а общемировая заболеваемость оценивается в 50 млн. человек. По мнению специалистов, БА неизлечима, смертельна и приводит к колоссальным экономическим потерям из-за необходимости ухода за пациентами. Кроме того, отсутствуют внедренные в клиническую практику неинвазивные методы биохимической диагностики, в частности, ранней диагностики БА. Данное исследование направлено на разработку подхода для диагностики БА на ранней стадии, посредством детекции мультимеров пептида А β 42 в биологических жидкостях человека (крови, лимфе).

Введение. Ассоциация по изучению болезни Альцгеймера определяет заболевание как деменцию, связанную с накоплением агрегированных форм пептида А β и белка Тау. Ключевым биохимическим маркером, говорящим о возможном старте патологического каскада при болезни Альцгеймера, является появление агрегированной (мультимерной) формы пептида А β . К основным методам диагностики БА относят МРТ и ПЭТ головного мозга. Однако оба метода детектируют сравнительно поздние стадии болезни, также требуют дорогостоящего оборудования. Одним из наиболее ранних методов диагностики болезни Альцгеймера, внедренных в клиническую практику, является анализ соотношения А β и Тау и степени фосфорилирования Тау в цереброспинальной жидкости. Однако данный подход имеет недостатки, связанные с необходимостью забора цереброспинальной жидкости, что потенциально угрожает здоровью пациентов. Перспективные подходы, которые могли бы быть использованы для создания метода неинвазивной (и возможно, ранней) диагностики, связаны с детекцией агрегированной формы А β в жидкостях организма, в том числе в крови [1]. Известно, что А β присутствует в крови, например, он накапливается в тромбоцитах. Для детекции пептида А β в жидкостях организма мы адаптируем методику РМСА, которая была ранее применена для детекции в крови прионных агрегатов белка PrP [2].

Основная часть. В ходе данного проекта нами получены генетические конструкции, кодирующие различные аллели пептида А β , а также конструкции, в которых варианты А β объединены с последовательностью SUMO. Используя штамм *E coli* Rosetta были подобраны условия для наработки и очистки исследуемых рекомбинантных белков. Очистку белков проводили с помощью металл-аффинной хроматографии в денатурирующих условиях. Далее планируется проведение анализа по кинетики агрегации вариантов А β при помощи метода флуориметрии в присутствии амилоид - специфического красителя – тиофлавина Т. Вариант с оптимальными кинетическими параметрами будет использован в последующей реакции РМСА.

Выводы. В случае успеха, разрабатываемая нами методика РМСА позволит обнаруживать мультимерную форму пептида А β в крови в исчезающе малых количествах и даст возможность диагностировать БА до появления клинических симптомов, как следствие, появится больше шансов на эффективную терапию.

Список использованных источников:

1. Rubel A.A., Kulichikhin K.Y., Chernoff Y.O., et al. Development of molecular tools for

diagnosis of Alzheimer's disease that are based on detection of amyloidogenic proteins. *Prion*. 2021 Dec;15(1):56-69. doi: 10.1080/19336896.2021.1917289.

2. Castilla J., Saá P., Soto C. Detection of prions in blood. *Nat. Med.* 11, 2005. 982-985. doi: 10.1038/nm1286