



УДК 616.894-053.8-021.6:577.218
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-47-54>

Изменение экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток эндотелия у экспериментальных животных с моделью болезни Альцгеймера

Кукла М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Бердников А.К., Колотьева Н.А., Салмина А.Б.

Научный центр неврологии
Россия, 125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, 80

РЕЗЮМЕ

Цель: оценить экспрессию VEGFR1 и VEGFR2 и зрелость клеток эндотелия в нейрогенных нишах при экспериментальной болезни Альцгеймера (БА).

Материалы и методы. Исследование проведено на самцах мышей линии C57BL/6 в возрасте 6 мес. Экспериментальной группе ($n = 15$) вводили 2 мкл 1 мМ раствора A β 25-35 в поле CA1 гиппокампа, контрольной группе ($n = 15$) – физиологический раствор. Пластичность мозга оценивали на 10-е, 17- и 38-е сут после операции с использованием теста условной реакции пассивного избегания. Экспрессию маркеров (VEGFR1, VEGFR2, CLDN5) исследовали методом иммуногистохимии с помощью системы визуализации Image ExFluor.

Результаты. У животных контрольной группы когнитивный тренинг стимулирует процессы неогенеза в нейрогенных нишах головного мозга, что сопровождается формированием микрососудов со зрелым эндотелием. У животных с экспериментальной моделью БА регистрируется раннее и выраженное увеличение экспрессии VEGFR1 к 7-м сут после когнитивной нагрузки, сопровождаемое нарушением барьерогенеза и высоким уровнем экспрессии VEGFR2 к 28-м сут после когнитивной нагрузки. Эти изменения сопряжены с формированием мелких сосудов с недостаточной структурной компетентностью клеток эндотелия.

Заключение. Неогенез в нейрогенных нишах животных с экспериментальной моделью БА характеризуется несостоятельностью механизмов регуляции субпопуляционного состава клеток эндотелия, нарушением стабилизации эндотелиального слоя и снижением скорости созревания клеток эндотелия во вновь образованных микрососудах к периоду манифестации когнитивного дефицита, что может способствовать нарушению микроциркуляции и неогенеза в нейрогенных нишах, а также развитию патологической проницаемости и нейровоспаления. В целом нарушение процессов неогенеза в нейрогенных нишах, регистрируемое при когнитивной нагрузке животных с моделью БА, свидетельствует о возможном вкладе этого механизма в развитие aberrантной пластичности головного мозга.

Ключевые слова: VEGFR1, VEGFR2, CLDN5, неогенез, ангиогенез, нейрогенные ниши

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при проведении исследования.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-00126, <https://rscf.ru/project/22-15-00126>.

Соответствие принципам этики. Исследование утверждено решением локального этического комитета ФГБНУ «Научный центр неврологии» (протокол № 5-3/22 от 01.06.2022).

Для цитирования: Кукла М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Бердников А.К., Колотьева Н.А., Салмина А.Б. Изменение экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток эндотелия у экспериментальных животных с моделью болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):47–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-47-54>.

✉ Кукла Мария Владимировна, mashenka.ryazanova@list.ru

Changes in VEGFR1 and VEGFR2 expression and endothelial cell maturity in laboratory animals with a model of Alzheimer's disease

Kukla M.V., Averbchuk A.S., Stavrovskaya A.V., Rozanova N.A., Berdnikov A.K., Kolotyeva N.A., Salmina A.B.

Research Center of Neurology

80, Volokolamskoye Highway, Moscow, 125367, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the expression of VEGFR1 and VEGFR2 and the maturity of endothelial cells in neurogenic niches in the model of Alzheimer's disease.

Materials and methods. The study was carried out on 6-month-old male C57BL/6 mice. The experimental group ($n = 15$) received 2 μ l of 1 mM A β 25-35 solution in the CA1 hippocampal region, while the control group ($n = 15$) received normal saline. Brain plasticity was assessed at day 10, 17, and 38 after surgery by the passive avoidance test. The expression of VEGFR1, VEGFR2, and CLDN5 was assessed by immunohistochemistry and the Image ExFluorimaging system.

Results. In the control group, cognitive training stimulated angiogenesis in the neurogenic niches of the brain, which was accompanied by the formation of microvasculature with fully mature endothelium. In the experimental group, an early and pronounced increase in the VEGFR1 expression was observed by day 7 after cognitive training, which was followed by impaired barrier formation and high VEGFR2 expression by day 28 after cognitive training. These changes were associated with the formation of small vessels with structural incompetence of endothelial cells.

Conclusion. Angiogenesis in neurogenic niches of the animals with the model of Alzheimer's disease is characterized by incompetent mechanisms regulating the subpopulation composition of endothelial cells, impaired stabilization of the endothelial layer, and a decrease in the maturation rate of endothelial cells in newly formed microvessels by the time of cognitive deficit manifestation. This may contribute to microcirculatory dysfunction and impaired neurogenesis in neurogenic niches as well as to the development of pathological permeability and neuroinflammation. On the whole, the disruption of angiogenesis in neurogenic niches observed in the animal model of Alzheimer's disease suggests a potential contribution of this mechanism to the development of aberrant brain plasticity.

Keywords: VEGFR1, VEGFR2, CLDN5, neurogenesis, angiogenesis, neurogenic niches

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was funded by the Russian Science Foundation grant No. 22-15-00126, <https://rscf.ru/project/22-15-00126>.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics Committee at the Research Center of Neurology (Protocol No. 5-3/22 of 01.06.2022).

For citation: Kukla M.V., Averbchuk A.S., Stavrovskaya A.V., Rozanova N.A., Berdnikov A.K., Kolotyeva N.A., Salmina A.B. Changes in VEGFR1 and VEGFR2 expression and endothelial cell maturity in laboratory animals with a model of Alzheimer's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(4):47–54. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-4-47-54>.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) характеризуется нейродегенеративными изменениями, в основе которых лежат нарушение синтеза и накопление бета-амиоида (А β) в межклеточном пространстве [1, 2]. Одновременно происходит скопление фосфорилированного тау-белка внутри нейронов, что приводит к повреждению и гибели клеток мозга.

Влияние А β на нейроны приводит к дисфункции клеточных мембран, нарушению сигнальных путей и преждевременной гибели нейронов. Эти изменения оказываются особенно значимыми в областях головного мозга, ответственных за формирование памяти и когнитивные функции, таких как гиппокамп [3]. Активация микроглии в ответ на аккумуляцию А β провоцирует нейровоспаление, а повреждение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) под воздействи-

ем Аβ инициирует нарушение барьерных функций, дополнительно способствуя развитию воспаления и повреждения ткани [4]. Кроме повреждения ГЭБ, микрососуды при БА подвергаются интенсивному ремоделированию, что сопровождается непродуктивным ангиогенезом и aberrантным барьерогенезом [5]. Особую значимость эти события могут приобретать в нейрогенных нишах. Исследования показали, что при ишемическом повреждении головного мозга новые микрососуды с повышенной проницаемостью ГЭБ играют важную роль не только в развитии нейровоспаления, но и в образовании новых областей нейрогенеза, что способствует восстановительным процессам в мозговой ткани [6].

Следует учитывать, что сосудистый скаффолд играет ключевую роль в регуляции нейрогенеза. В субвентрикулярной зоне (SVZ) повышенная проницаемость ГЭБ способствует поступлению регуляторных молекул из крови в микроокружение нейральных стволовых клеток (НСК) и нейральных прогениторных клеток (НПК). В субгранулярной зоне гиппокампа (SGZ) стенка микрососудов менее проницаема, и поэтому локально продуцирующиеся факторы в большей степени ответственны за регуляцию процессов поддержания пула НСК и НПК [7]. Такие изменения локального микроокружения при нейровоспалении и aberrантном ангиогенезе при БА, а также при других нейродегенеративных заболеваниях или нарушениях развития головного мозга снижают интенсивность нейрогенеза, что, в свою очередь, способствует развитию когнитивного дефицита [8–10]. Так, ранее мы показали [11], что в период, предшествующий развитию когнитивного дефицита у животных с экспериментальной БА, в SGZ гиппокампа интенсифицируются процессы разделения митохондрий и аутофагии клеток эндотелия микрососудов, что является признаком ремоделирования микрососудов.

Роль сосудисто-эндотелиального фактора роста – VEGF – давно изучается в контексте нейрогенеза и церебрального ангиогенеза. В головном мозге рецепторы VEGF экспрессируются на клетках нейрональной, глиальной, макрофагальной и эндотелиальной природы и регулируют различные аспекты их активности в норме и при патологии [12, 13], обеспечивая передачу сигналов, позитивно регулирующих пролиферацию, миграцию и развитие клеток. Существует три вида рецепторов: VEGFR1 (Flt-1), VEGFR2 (KDR или Flk-1) и VEGFR3 (Flt-4). VEGFR1 и VEGFR2 играют важную роль в регуляции ангиогенеза и нейрогенеза в мозге, в то время как VEGFR3 обычно ассоциируется с лимфатическим ангиогенезом и регуляцией пролиферации клеток эндотелия лимфа-

тических сосудов [14], а основными продуцентами VEGF являются клетки нейрональной и глиальной природы [15, 16].

С учетом того, что процессы ангиогенеза сопровождаются приобретением клетками эндотелия специфического фенотипа – *tip*, *stalk*, *phalanx*, важно упомянуть о том, что активация различных видов рецепторов на этих клетках обеспечивает регуляцию этой специализации. Так, активация VEGFR2 на мембране *tip*-клеток (мигрирующих по градиенту концентрации проангиогенных молекул) приводит к повышению уровня экспрессии Dll4. Этот белок затем взаимодействует с Notch-рецепторами на соседних эндотелиальных клетках, что вызывает снижение экспрессии VEGFR2 и VEGFR3 в этих клетках. Этот процесс предотвращает конверсию *stalk*-клеток (пролиферирующих, идущих вслед за *tip*-клетками и формирующих стенку вновь образующегося микрососудов) в *tip*-клетки (механизм латерального ингибирования). Активация VEGFR1 на мембране *phalanx*-клеток (обеспечивающих стабилизацию барьерной функции сосудистой стенки) способствует их миграции [17, 18], причем экспрессия обоих типов рецепторов – VEGFR1 и VEGFR2 – в ткани мозга эксклюзивна для клеток эндотелия [19]. Стабилизация ГЭБ во вновь образованных микрососудах обеспечивается за счет индукции экспрессии в клетках эндотелия белков плотных и адгезионных контактов (JAM, ZO1, CLDN5 и др.) и снижения локальной продукции VEGF, что важно для поддержания структурной целостности барьера [16, 20]. При несостоятельности этих механизмов барьерогенез является неэффективным и вероятно развитие нейровоспаления.

Целью нашей работы стала оценка экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 и зрелости клеток эндотелия в нейрогенных нишах при экспериментальной болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования были отобраны 30 самцов мышей линии C57BL/6. Возраст мышей к началу экспериментов составлял 6 мес. Животных содержали в стандартных условиях вивария с круглосуточным доступом к пище и воде. Для анестезии использовался золетил-100 от компании Virbac Sante Animale (Франция), разведенный физиологическим раствором 1 : 4. Смесь вводили внутримышечно (дозировка 1,5 мг активного вещества на 25 г массы тела). Также применяли ксилу (Interchemie werken «De Adelaar» B.V., Нидерланды), разведенную в соотношении 1 : 2, которую вводили внутримышечно в дозировке 0,6 мг на 25 г массы.

Была проведена стереотаксическая операция, в ходе которой использовались координаты: AP – 2,0; ML – 1,9; DV – 1,3. Опытной группе мышей ($n = 15$) билатерально вводили по 2 мкл 1 мМ раствора A β 25-35 (Sigma-Aldrich Co., США) непосредственно в гиппокамп. Контрольная группа ($n = 15$) получала аналогичные инъекции физиологического раствора в том же объеме.

Все исследования проводились в соответствии с принципами этичного обращения с животными и были одобрены локальным этическим комитетом Научного центра неврологии (протокол № 5-3/22 от 01.06.2022).

Когнитивный тренинг. Полный протокол и результаты тестирования когнитивных функций были представлены нами ранее в [11]. Для анализа применялся тест условной реакции пассивного избегания (УРПИ) и программа ShutAvoid 1.8.03 на оборудовании Panlab Harvard Apparatus (Испания). Оценка проводилась на 10, 17 и 38-е сут после операции в дневное время (что соответствует 1, 7 и 28-м сут после когнитивного тренинга животных).

В каждой временной точке осуществляли забор биологического материала (по пять животных от каждой группы) через 1 ч после оценки когнитивных функций.

Иммуногистохимическое исследование. Для выведения из эксперимента животных анестезировали и декапитировали. Изъятый мышинный головной мозг фиксировали в 4%-м параформальдегиде (Wuhan Servicebio Co., Ltd., Китай), на криостате Tissue-Tek® Cryo3 (Sakura-Finetek, Япония) изготавливали гистологические срезы толщиной 10 мкм. Биоматериал хранили при температуре 4 °C.

Иммуногистохимическое окрашивание осуществляли первично мечеными антителами: anti-VEGFR2 (1:250, AF6281-F488, Affinity, Китай); anti-CLDN5 (1:250, AF5216-F488, Affinity, Китай); anti-CD31 (1:250, AF6191-F555, Affinity, Китай) и первичными anti-VEGFR1 (1:100, FNab09393, FineTest, Китай) с соответствующими вторичными козьими антикроличьими антителами (1:100, E-AB-1060, Elabscience, Китай).

Перед окрашиванием срезы предварительно отмывали в PBS (2.1.1, ООО «Росмедбио», Россия) 10 мин, а затем 20 мин в 0,1%-м растворе Triton X-100 (Calbiochem Biochemicals, США) с добавлением 5%-й BSA (1126GR100, BioFroxx, Германия). Срезы заключали под покровное стекло с помощью монтирующей среды Fluoroshield Mounting with DAPI (Sigma Aldrich CO., F6057, США). Визуализацию осуществляли на системе визуализации Image ExFluor (LCI, Корея), изображения обрабатывали

плагином для программы ImageJ [21]. Интенсивность экспрессии указанных маркеров характеризовали количеством клеток, экспрессирующих соответствующий маркер, нормированных на 100 DAPI-позитивных клеток.

Протокол иммуноблоттинга. Извлечение белков из гомогенатов ткани головного мозга проводилось с применением RIPA Lysis Buffer (Servicebio, Китай) на льду. Разделение белков осуществлялось методом электрофореза SDS-PAGE с загрузкой 40 мкг белка в каждую лунку. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану (0,45 мкм, Bio-Rad, США) проводился с использованием аппарата для влажного электропереноса SVT-2 (Servicebio, Китай) при постоянной силе тока 300 мА в течение 30 мин. Мембрана инкубировалась с первичными антителами VEGF (1:1000, AF5131, Affinity, Китай), BDNF (1:1000, DF6387, Affinity, Китай), Actin (1:1500, AF7018, Affinity, Китай) в течение 12 ч при температуре 4 °C. После инкубации производилась промывка мембраны в растворе Трис с Tween-20. Следующая инкубация мембраны со вторичными антителами (1:1000, SAA544Rb59, Cloud-Clone, Китай), содержащими пероксидазу, проводилась в течение 60 мин при 37 °C. Для визуализации использовался краситель DAB. Детекция белков проводилась с использованием системы Geldoc Go (Bio-Rad, США). Для анализа полученных изображений использовалось программное обеспечение Bio-Rad ImageLab.

Статистический анализ. Результаты УРПИ анализировались с использованием однофакторного анализа ANOVA и теста Фишера. Данные иммуногистохимических исследований оценивались с помощью *U*-теста Манна – Уитни в программном пакете Statistica v. 12.0 (StatSoft Inc., США). Результаты считали значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M + \sigma$).

Результаты и их обсуждение. Как мы показали ранее, у животных с используемой моделью нейродегенерации альцгеймеровского типа к 28-м сут после первой сессии в УРПИ-тесте регистрируется статистически значимое снижение когнитивных функций [11]. Это сопровождается изменением экспрессии Arg3.1/Arc в нейрогенных нишах головного мозга животных [22], что позволяет считать протокол УРПИ адекватным способом реализации когнитивного тренинга (обучения) в эксперименте.

Нами была проанализирована экспрессия VEGFR1 в нейрогенных нишах животных двух групп (рис. 1). У контрольной группы животных в SGZ и SVZ к 28-м сут наблюдается статистически значимое увеличение количества клеток, экспрессирующих

VEGFR1 по сравнению с предыдущими временными точками ($p = 0,0450$). Мы расцениваем это как индукцию неоангиогенеза с закономерным прогрессирующим увеличением к 28-м сут количества phalanx-клеток, формирующих эндотелиальный слой во вновь образованных микрососудах, что, вероятно, связано с активизацией нейрогенеза после когнитивного тренинга [23]. Косвенно это подтверждается тем, что VEGFR1 стимулирует миграцию phalanx-клеток

ток эндотелия, участвующих в формировании новых микрососудов [15]. Примечательно, что этот эффект инвертирован у животных с БА, у которых увеличение количества VEGFR1-иммунопозитивных клеток регистрируется намного раньше (на 7-е сут после тренинга), а затем практически нивелируется. Вероятно, это отражает несостоятельность механизмов стимулированного обучением неоангиогенеза у животных с моделью БА [11].

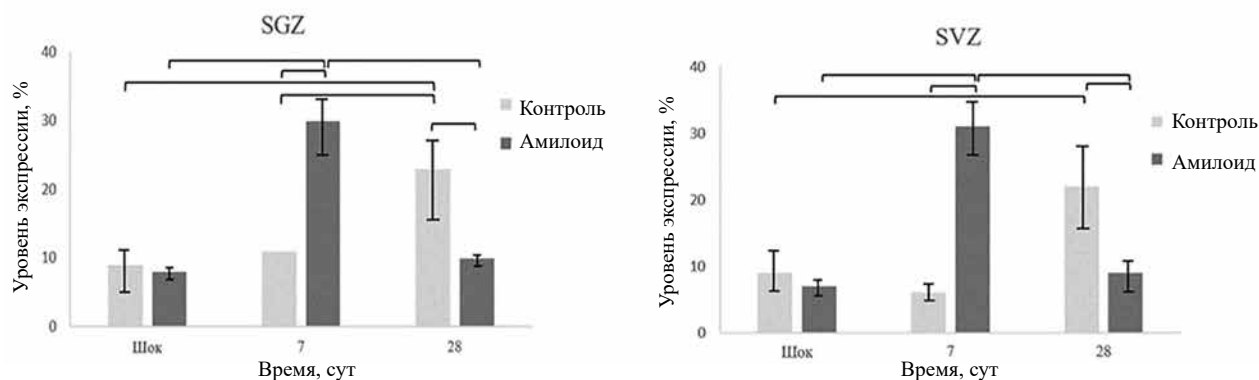


Рис. 1. Количество VEGFR1-иммунопозитивных клеток в SGZ и SVZ контрольных ложнооперированных животных (К) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (А) на момент когнитивного тренинга («шок»), 7-е и 28-е сут после обучения, $M + \sigma$, $p < 0,05$

Далее мы проанализировали экспрессию VEGFR2 в нейрогенных нишах (рис. 2). Признаком усиленного ангиогенеза, стимулированного когнитивной нагрузкой (обучением), у животных обеих групп в SGZ гиппокампа являлось увеличение количества VEGFR2-иммунопозитивных клеток уже к 7-м сут ($p = 0,0495$). К 28-м сут у животных контрольной группы количество VEGFR2+ клеток уменьшилось,

что может быть связано со снижением числа tip-клеток эндотелия и увеличением количества stalk-клеток (механизм латерального ингибирования). У животных с БА этот механизм оказывается неэффективным, так как количество VEGFR2-иммунопозитивных клеток остается стабильно высоким в обеих нейрогенных нишах до 28-х сут наблюдения, соответствующих проявлению когнитивной дисфункции.

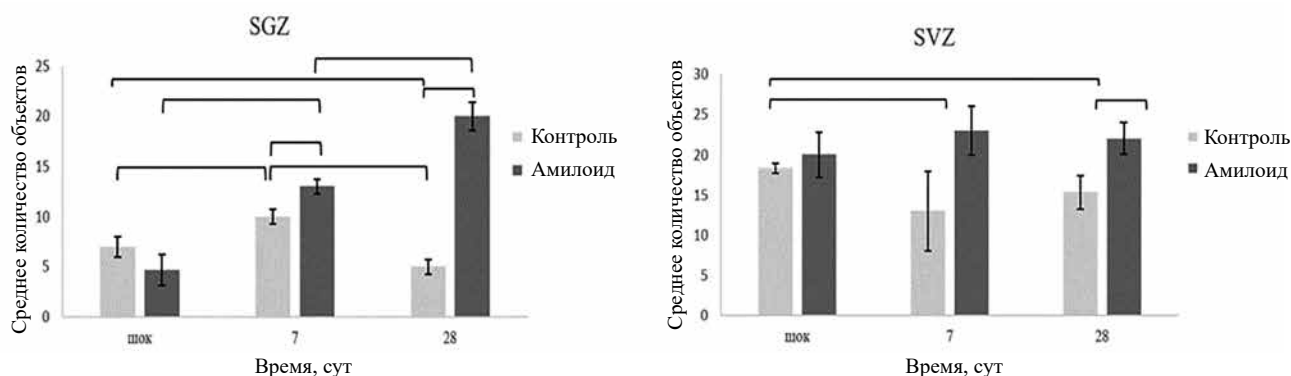


Рис. 2. Изменение количества VEGFR2-иммунопозитивных клеток в SGZ, SVZ контрольных ложнооперированных животных (К) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (А) на момент обучения («шок»), 7-е и 28-е сут после обучения: количество VEGFR2-иммунопозитивных клеток нормировано на 100 DAPI+ клеток, $M + \sigma$, $p < 0,05$

Таким образом, неоангиогенез в нейрогенных нишах животных с экспериментальной моделью БА характеризуется несостоятельностью механизмов регуляции субпопуляционного состава клеток эндотелия и нарушением стабилизации эндотелиального слоя во вновь образованных микрососудах к периоду манифестации когнитивного дефицита (28-е сут после обучения).

При оценке уровня VEGFA в ткани головного мозга (рис. 3) мы обнаружили, что к 28-м сут после обучения и у контрольных животных, и у животных

с Аβ-моделью количество этого ангиогенного фактора прогрессивно снизилось, но статистически значимых различий в динамике между контрольной и экспериментальной группами не выявлено. Таким образом, уровень VEGF в ткани головного мозга не связан с зарегистрированной инверсией экспрессии VEGFR1 и VEGFR2 в нейрогенных нишах у животных обеих групп. Вероятно, локальные изменения стимулированной обучением продукции VEGFA в SGZ и SVZ могут быть ответственными за наблюдаемые эффекты, и это требует дальнейшего изучения.

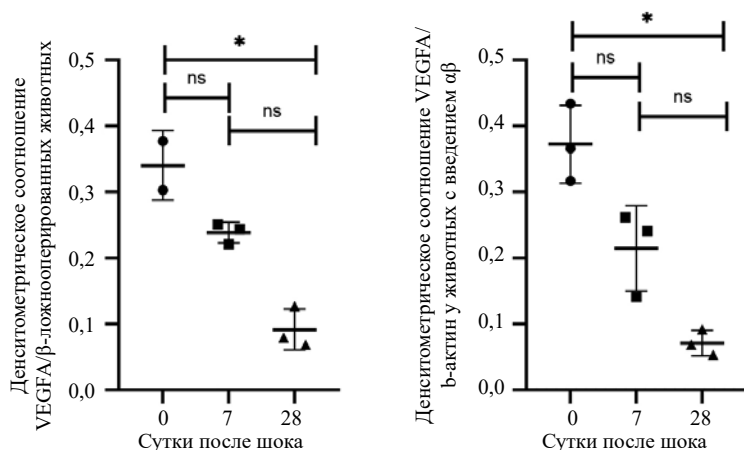


Рис. 3. Денситометрический анализ иммуноблоттинга гомогената ткани головного мозга ложнооперированных животных (Контроль) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (Амилоид) на предмет экспрессии VEGFA, нормированной относительно экспрессии β-актина: ns – отсутствует статистически значимое различие между группами, $M + \sigma$, $p < 0,05$

С учетом полученных данных о том, что при экспериментальной БА в нейрогенных нишах головного мозга процессы ангиогенеза, простимулированные когнитивной нагрузкой, сопровождаются вероятным нарушением формирования эндотелиального слоя, далее мы оценили, как это соотносится со зрелостью клеток эндотелия. Для этого мы проанализировали отношение числа CLDN5-экспрессирующих клеток эндотелия к общему числу CD31-иммунопозитив-

ных клеток в нейрогенных нишах (рис. 4). Примечательно, что в SGZ у животных с моделью экспериментальной БА, в отличие от животных контрольной группы, регистрируется статистически значимое снижение доли зрелых эндотелиоцитов (клетки CLDN5⁺ CD31⁺) к 28-м сут наблюдения. В SVZ схожие изменения развиваются раньше клетки на 7-е сут, т. е. в период, предшествующий манифестации когнитивного дефицита.

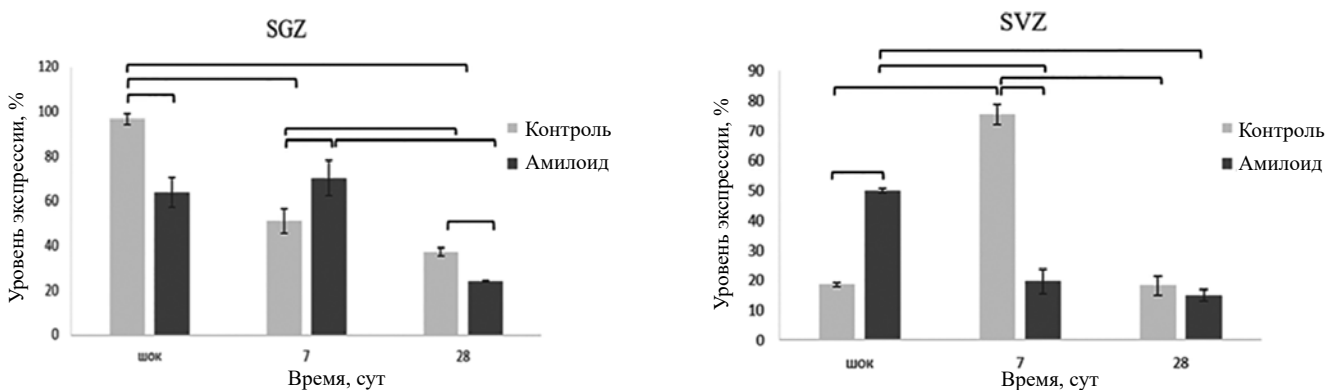


Рис. 4. Изменение доли клеток CLDN5⁺ в популяции эндотелиоцитов CD31⁺ в SGZ и SVZ контрольных ложнооперированных животных (К) и животных с интрагиппокампальным введением Аβ25-35 (А) на момент обучения («шок»), 7-е и 28-е сут после обучения, $M + \sigma$, $p < 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При оценке особенностей экспрессии двух подтипов рецепторов VEGF и белка плотных контактов в клетках эндотелия микрососудов SGZ и SVZ мы установили, что обучение (когнитивный тренинг) животных контрольной группы приводит к интенсификации неангиогенеза в нейрогенных нишах головного мозга, и это, вероятно, необходимо для поддержания эффективного нейрогенеза. Указанные события сопровождаются субпопуляционными изменениями клеток эндотелия (механизм латерального ингибирования), признаками их созревания (увеличение экспрессии CLDN5) в течение 28 сут после обучения, что соответствует периоду формирования новых нейронов в нейрогенной нише [24].

У животных с экспериментальной моделью БА ангиогенез в нейрогенных нишах тоже индуцируется после когнитивного тренинга. Однако к моменту проявления когнитивного дефицита (28-е сут после обучения) в этих регионах головного мозга регистрируется статистически значимое снижение количества VEGFR1-экспрессирующих клеток и сохранение высокого уровня VEGFR2-экспрессирующих клеток, что свидетельствует о несостоятельности формирования стабильного эндотелиального слоя, вероятно, вследствие нарушения механизмов латерального ингибирования. Изменение процессов неангиогенеза в нейрогенных нишах, регистрируемое при когнитивной нагрузке животных с моделью болезни Альцгеймера, свидетельствует о возможном вкладе этого механизма в развитие нейровоспаления, несостоятельности локальной микроциркуляции и формирование aberrантной пластичности головного мозга.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Sehar U., Rawat P., Reddy A.P., Kopel J., Reddy P.H. Amyloid beta in aging and Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(21):12924. DOI: 10.3390/ijms232112924.
- Scopa C., Marrocco F., Latina V., Ruggeri F., Corvaglia V., La Regina. Impaired adult neurogenesis is an early event in Alzheimer's disease neurodegeneration, mediated by intracellular A β oligomers. *Cell Death & Differentiation*. 2020;27(3):934–948. DOI: 10.1038/s41418-019-0409-3.
- Бурняшева А.О., Стефанова Н.А., Рудницкая Е.А. Нейрогенез в зрелом головном мозге: изменения при старении и развитии болезни Альцгеймера. *Успехи геронтологии*. 2020;33(6):1080–1087. DOI: 10.34922/AE.2020.33.6.008.
- Komleva Y.K., Lopatina O.L., Gorina Y.V., Chernykh A.I., Trufanova L.V., Vais E.F. et al. Expression of NLRP3 inflammasomes in neurogenic niche contributes to the effect of spatial learning in physiological conditions but not in Alzheimer's type neurodegeneration. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2022;2(5):1355–1371. DOI: 10.1007/s10571-020-01021-y.
- Alvarez-Vergara M.I., Rosales-Nieves A.E., March-Diaz R., Rodriguez-Perinan G., Lara-Ureña N., Ortega-de San Luis. Non-productive angiogenesis disassembles A β plaque-associated blood vessels. *Nature Communications*. 2021;12(1):3098. DOI: 10.1038/s41467-021-23337-z.
- Lin R., Cai J., Nathan C., Wei X., Schleidt S., Rosenwasser R. et al. Neurogenesis is enhanced by stroke in multiple new stem cell niches along the ventricular system at sites of high BBB permeability. *Neurobiology of Disease*. 2015;(74):229–239. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.11.016.
- Pozhilenkova E.A., Lopatina O.L., Komleva Y.K., Salmin V.V., Salmina A.B. Blood-brain barrier-supported neurogenesis in healthy and diseased brain. *Reviews in the Neurosciences*. 2017;28(4):397–415. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0071.
- Salmina A.B., Gorina Y.V., Komleva Y.K., Panina Y.A., Malinovsky N.A. Early life stress and metabolic plasticity of brain cells: impact on neurogenesis and angiogenesis. *Biomedicines*. 2021;9(9):1092. DOI: 10.3390/biomedicines9091092.
- Горина Я.В., Осипова Е.Д., Моргунов А.В., Малиновская Н.А., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л. и др. Аберрантный ангиогенез в ткани головного мозга при экспериментальной болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(4):46–52. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-46-52.
- Morgun A.V., Osipova E.D., Boitsova E.B., Lopatina O.L., Gorina Y.V., Pozhilenkova E.A. et al. Vascular component of neuroinflammation in experimental Alzheimer's disease in mice. *Cell and Tissue Biology*. 2020;(14):256–262. DOI: 10.1134/S1990519X20040057.
- Аверчук А.С., Рязанова М.В., Баранич Т.И., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Новикова С.В. и др. Нейротоксическое действие β -амилоида сопровождается изменением митохондриальной динамики и аутофагии нейронов и клеток церебрального эндотелия в экспериментальной модели болезни Альцгеймера. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2023;175(3):291–297. DOI: 10.47056/0365-9615-2023-175-3-291-297.
- Lei Y., Chen X., Mo J.L., Lv L.L., Kou Z.W., Sun F.Y. Vascular endothelial growth factor promotes transdifferentiation of astrocytes into neurons via activation of the MAPK/Erk-Pax6 signal pathway. *Glia*. 2023;71(7):1648–1666. DOI: 10.1002/glia.24361.
- Okabe K., Fukada H., Tai-Nagara I., Ando T., Honda T., Nakajima K. Neuron-derived VEGF contributes to cortical and hippocampal development independently of VEGFR1/2-mediated neurotrophism. *Developmental Biology*. 2020;459(2):65–71. DOI: 10.1016/j.ydbio.2019.11.016.
- Monaghan R.M., Page D.J., Ostergaard P., Keavney B.D. The physiological and pathological functions of VEGFR3 in cardiac and lymphatic development and related diseases. *Cardiovascular Research*. 2021;117(8):1877–1890. DOI: 10.1093/cvr/cvaa291.
- Wittko-Schneider I.M., Schneider F.T., Plate K.H. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 – two unequal brothers in mind. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2013;70(10):1705–1725. DOI: 10.1007/s00018-013-1279-3.
- Argaw A.T., Asp L., Zhang J., Navrazhina K., Pham T., Mariani J.N. et al. Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 2012;122(7):2454–2468. DOI: 10.1172/JCI60842.

17. De Smet F., Segura I., De Bock K., Hohensinner P.J., Carmeliet P. Mechanisms of vessel branching: filopodia on endothelial tip cells lead the way. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2009;29(5):639–649. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.185165.
18. Lacal P.M., Graziani G. Therapeutic implication of vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) targeting in cancer cells and tumor microenvironment by competitive and non-competitive inhibitors. *Pharmacological Research*. 2018;136:97–107. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.08.023.
19. Okabe K., Fukada H., Tai-Nagara I., Ando T., Honda T., Nakajima K. et al. Neuron-derived VEGF contributes to cortical and hippocampal development independently of VEGFR1/2-mediated neurotrophism. *Developmental Biology*. 2020;459(2):65–71. DOI: 10.1016/j.ydbio.2019.11.016.
20. Hashimoto Y., Greene C., Munnich A., Campbell M. The CLDN5 gene at the blood-brain barrier in health and disease. *Fluids and Barriers of the CNS*. 2023;20(1):22. DOI: 10.1186/s12987-023-00424-5.
21. Салмин В.В., Салмина А.Б., Моргун А.В. Патент РФ № 2020612777. Плагин для программы ImageJ для подсчета флуоресцентных меток на микрофотографиях. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020;(3). Опубликовано 03.03.2020
22. Рязанова М.В., Аверчук А.С., Ставровская А.В., Розанова Н.А., Новикова С.В., Салмина А.Б. Особенности экспрессии Arg/Arg3.1 в ткани головного мозга при обучении животных с экспериментальной болезнью Альцгеймера. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2023;17(3):49–56. DOI: 10.54101/ACEN.2023.3.6.
23. Naito H., Iba T., Takakura N. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells. *International Immunology*. 2020;32(5):295305. DOI: 10.1093/intimm/dxaa008.
24. Niklison-Chirou M.V., Agostini M., Amelio I., Melino G. Regulation of adult neurogenesis in mammalian brain. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(14):4869. DOI: 10.3390/ijms21144869.

Вклад авторов

Кукла М.В. – разработка дизайна, выполнение тестирования и иммуногистохимических исследований, написание рукописи. Аверчук А.С. – выполнение иммуногистохимических исследований, обработка данных, написание рукописи. Ставровская А.В. – выполнение операции, тестирование животных, обработка данных. Розанова Н.А. – подготовка срезов головного мозга, выполнение иммуногистохимических исследований. Бердников А.К., Колотьева Н.А. – проведение, анализ и интерпретация данных иммуноблоттинга. Салмина А.Б. – разработка концепции исследования и дизайна, обработка полученных данных, написание рукописи, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Благодарности

Выражаем благодарность лаборатории экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии ФГБНУ «Научный центр неврологии» за проведение стереотаксической операции на животных, а также руководителю НОЦ «Мягкая материя и физика флюидов» МГТУ им. Н.Э. Баумана, д-ру физ.-мат. наук С.О. Юрченко и мл. науч. сотруднику НОЦ А. Копыловой за предоставление возможности работы и помощь при выполнении исследований на системе визуализации Image ExFluorger.

Информация об авторах

Кукла Мария Владимировна – аспирант, лаборант-исследователь, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, mashenka.ryazanova@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0700-4912>

Аверчук Антон Сергеевич – канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, antonaverchuk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1284-6711>

Ставровская Алла Вадимовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория экспериментальной патологии нервной системы и нейрофармакологии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, alla_stav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8689-0934>

Розанова Наталья Александровна – аспирант, лаборант-исследователь, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, nataliarozanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9619-4679>

Бердников Арсений Константинович – аспирант, лаборант-исследователь, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, akberdnikov@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-4195-2533>

Колотьева Наталия Александровна – д-р мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, bortnikova.n@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7853-6222>

Салмина Алла Борисовна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии, Институт мозга, Научный центр неврологии, г. Москва, allasalmina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4012-6348>

(✉) Кукла Мария Владимировна, mashenka.ryazanova@list.ru

Поступила в редакцию 18.06.2024;
одобрена после рецензирования 02.07.2024;
принята к публикации 12.09.2024