



ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МАРКЕРОВ АУТОФАГИИ В ГИППОКАМПЕ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СТАРЕНИИ И БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

^{1,2}Сухоруков В.С., ^{1,3}Баранич Т.И., ^{1,2}Вельц О.В., ^{1,2}Окулова К.М., ¹Воронков Д.Н.,
^{1,2}Егорова А.В., ⁴Щербак Е.В., ¹Глинкина В.В.

¹Российский центр неврологии и нейронаук; ²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова; ³Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова; ⁴Городская клиническая больница № 1 имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия; e-mail: baranich_tatyana@mail.ru

Резюме

ВВЕДЕНИЕ. Аутофагия является ключевым механизмом удаления поврежденных органелл в нейронах, и ее дисфункция лежит в основе старения и патогенеза многих нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера. Однако специфические особенности аутофагии в различных областях гиппокампа, проявляющих избирательную уязвимость при болезни Альцгеймера, остаются недостаточно изученными.

ЦЕЛЬ: оценка маркеров аутофагии в нейронах зон СА1 и СА2 гиппокампа человека в процессе физиологического старения и при спорадической болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Работа проведена на аутопсийном материале трупов молодых людей (35–45 лет, n=20), пожилых людей без нейродегенеративных заболеваний (>85 лет, n=20) и людей с болезнью Альцгеймера (стадия по Браак 3–4, >85 лет, n=15). Количество маркеров убиквитина pS65-Ub, TOMM20, SQSTM1/p62, Beclin-1, LC3b и LAMP2 определяли иммуногистохимическим методом, после чего оценивали интенсивность окрашивания в перикарионах нейронов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Было установлено, что с возрастом компенсаторная активация маркеров аутофагии отсутствует в зоне СА1 на фоне накопления адаптерного белка p62, тогда как в зоне СА2 наблюдается увеличение Beclin-1 и LAMP2 с уменьшением количества зрелых аутофагосом (LC3b). При болезни Альцгеймера в обеих зонах наблюдается уменьшение количества инициационных комплексов, содержащих Beclin-1, и накопление аутофагосом (LC3b); однако в зоне СА2 дополнительно регистрируется уменьшение количества LAMP2 и p62, что указывает на блокировку терминальных стадий аутофагии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Полученные данные указывают на выраженную зональную гетерогенность аутофагического ответа в гиппокампе как в процессе старения, так и при болезни Альцгеймера. Выявленные различия в процессе аутофагии в зонах СА1 и СА2 подтверждают необходимость дифференцированного подхода к выбору таргетных препаратов для лечения нейродегенеративных изменений.

Ключевые слова гиппокамп, аутофагия, митохондрии, болезнь Альцгеймера, старение.

Для цитирования Сухоруков В.С., Баранич Т.И., Вельц О.В., Окулова К.М., Воронков Д.Н., Егорова А.В., Щербак Е.В., Глинкина В.В. Иммуногистохимическая оценка маркеров аутофагии в гиппокампе человека при старении и болезни Альцгеймера. Морфологические ведомости. 2026;34(2):1021. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2026.34\(2\).1021](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2026.34(2).1021)

Статья поступила в редакцию 18 апреля 2026

Статья принята к публикации 30 июня 2026



IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF AUTOPHAGY MARKERS IN THE HUMAN HIPPOCAMPUS DURING AGING AND ALZHEIMER'S DISEASE

^{1,2}Sukhorukov VS, ^{1,3}Baranich TI, ^{1,2}Velts OV, ^{1,2}Okulova KM, ¹Voronkov DN,
^{1,2}Egorova AV, ⁴Shcherbak EV, ¹Glinkina VV

¹Russian Center of Neurology and Neurosciences; ²Pirogov Russian National Research Medical University; ³Sechenov First Moscow State Medical University; ⁴Pirogov City Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia; e-mail: baranich_tatyana@mail.ru

Summary

INTRODUCTION. Autophagy is a key mechanism for the removal of damaged organelles in neurons, and its dysfunction underlies aging and the pathogenesis of many neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease. However, the specific features of the autophagic response in different hippocampal regions that exhibit selective vulnerability in Alzheimer's disease remain poorly understood.

OBJECTIVE. The aim of this study was to comprehensively evaluate autophagy markers in neurons of the CA1 and CA2 zones of the human hippocampus during physiological aging and Alzheimer's disease.

MATERIALS AND METHODS. The work was performed on autopsy material from young patients (35–45 years old, n=20), elderly patients without neurodegenerative pathology (>85 years old, n=20), and patients with Alzheimer's disease (Braak stage 3–4, >85 years old, n=15). Markers of ubiquitin, pS65-Ub, TOMM20, SQSTM1/p62, Beclin-1, LC3b, and LAMP2 were determined immunohistochemically, and staining intensity in the neuronal perikarya was assessed.

RESULTS. It was found that, with age, compensatory activation of autophagy markers is absent in the CA1 zone against the background of accumulation of the adapter protein p62, whereas in the CA2 zone, an increase in Beclin-1 and LAMP2 is observed with a decrease in the number of mature autophagosomes (LC3b). In Alzheimer's disease, a decrease in the number of initiation complexes containing Beclin-1 and accumulation of autophagosomes (LC3b) are observed in both zones; however, in the CA2 zone, a decrease in the amounts of LAMP2 and p62 is additionally recorded, indicating a block in the terminal stages of autophagy.

CONCLUSION. The obtained data indicate pronounced zonal heterogeneity of the autophagic response in the hippocampus both during aging and in Alzheimer's disease. The identified differences in the autophagy process in the CA1 and CA2 zones confirm the need for a differentiated approach to the selection of targeted drugs for the treatment of neurodegenerative changes.

Keywords

hippocampus, autophagy, mitochondria, Alzheimer's disease, aging.

For the citation

Sukhorukov VS, Baranich TI, Velts OV, Okulova KM, Voronkov DN, Egorova AV, Shcherbak EV, Glinkina VV. Immunohistochemical evaluation of autophagy markers in the human hippocampus during aging and Alzheimer's disease. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter*. 2026;34(2):1021. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2026.34\(2\).1021](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2026.34(2).1021)

Article received 18 April 2026

Article accepted 30 June 2026

ВВЕДЕНИЕ

Процесс аутофагии – высоко консервативный клеточный механизм элиминации поврежденных органелл и макромолекул, приобретает особую важность в ходе возрастных изменений организма для постмитотических популяций клеток, неспособных к обновлению путем деления, в частности для стареющих нейронов [1]. В эукариотических клетках реализуются такие виды этого процесса, как шаперон-индуцированная

аутофагия, микроаутофагия, а также, макроаутофагия, которая в контексте развития возрастных и нейродегенеративных изменений мозга считается наиболее значимой [2]. Ключевой характеристикой макроаутофагии (в дальнейшем «аутофагии») является формирование специализированной везикулы, называемой аутофагосомой, вокруг субстрата, подлежащего элиминации и предварительно маркированного

при помощи убиквитина. Важно отметить, что реализация одной из наиболее важных задач аутофагии – утилизации поврежденных митохондрий (митофагии) – обеспечивается убиквитином, фосфорилированным в положении Ser65(pS65-Ub). В инициации митофагии ключевую роль играет рецептор наружной мембраны митохондрий TOMM20, обеспечивающий захват аутофагосомой поврежденной митохондрии [3]. Далее иницируется слияние аутофагосомы и лизосомы с образованием аутофаголизосомы, в полости которой осуществляется гидролиз содержимого под действием лизосомальных ферментов [4-5]. Учитывая многоэтапность аутофагии, а также сложный механизм ее регуляции, целесообразно оценивать этот комплексный процесс с помощью маркеров, специфичных для различных его звеньев. Так, маркером ранних стадий аутофагии является аллостерический модулятор-белок Beclin1 – один из ключевых компонентов комплекса PI3K, иницирующего созревание аутофагосомы [6]. Маркером зрелых аутофагосом служит белок LC3b – компонент мембран аутофагосом, обеспечивающий через взаимодействие с адапторными белками, в частности с белком SQSTM1 (p62), селективный захват структур, подлежащих деградации [7-8]. Наконец, маркером лизосом, позволяющим оценить поздние стадии аутофагии, является интегрированный в лизосомальную мембрану рецептор LAMP2, критически важный для процесса слияния аутофагосом и лизосом, дефицит которого приводит к массивному накоплению аутофагосом [9-10].

Особое значение процесс аутофагии приобретает при болезни Альцгеймера (БА), основу морфологических изменений при которой составляют скопления аномальных белков – амилоидных бляшек (A β) и нейрофибриллярных клубков (тау-белок). БА – самая распространенная форма деменции, составляющая приблизительно 60–70% всех ее случаев [11], является возраст-ассоциированным нейродегенеративным заболеванием, клинически проявляющимся прогрессирующим ухудшением памяти, а также

развитием когнитивных и моторных нарушений [12]. Отсутствие эффективных методов диагностики и лечения данной патологии определяет БА как серьезную медико-социальную проблему, требующую активного изучения. Известно, что формирование нейрофибриллярных клубков, коррелирующее с развитием когнитивных нарушений при БА, начинается в области трансэнторинальной коры, распространяется на энторинальную кору, зону CA1 гиппокампа и, наконец, в неокортекс [13]. Наибольшая выраженность этих нарушений наблюдается в гиппокампе, что клинически проявляется неуклонным снижением памяти и расстройством высших мозговых функций [14].

Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что разные зоны гиппокампа неодинаково уязвимы к агрегации патологических белков [15]. Так, при анализе волюметрических параметров, выполненном при помощи метода высокопольной МРТ у пациентов с БА, было выявлено снижение тканевого объема в зоне CA1 гиппокампа [14–16], а также в зубчатой извилине [16]. В исследовании D.H. Adler и соавт. (2018) с использованием 3d-анализа МРТ-изображений гиппокампа и последующим окрашиванием серийных гистологических срезов этой структуры показано, что наибольшим изменениям при БА подвержена зона CA1 гиппокампа, а зоны CA2/CA3 менее вовлечены в патологический процесс [17]. Это позволяет рассматривать зону CA1, нейроны которой обеспечивают организацию пространственной и эпизодической памяти, как один из основных участков поражения при БА [12].

Однако, зона CA2 также играет существенную роль в когнитивных процессах [18, 19]. Она имеет решающее значение как для формирования и извлечения воспоминаний, связанных с социальными взаимодействиями, так и для запоминания временной последовательности объектов [18]. Пирамидные нейроны CA2 отличаются от нейронов других зон гиппокампа по морфологии, биофизическим и электрофизиологическим свойствам [20]. Показано, что зона CA2 играет

важную роль в координации динамики гиппокампальной нейронной сети [21], и повреждение ее нейронов приводит к дефициту социальной памяти в модели болезни Альцгеймера у мышей [22]. Таким образом, анализ нейродегенерации в этой области в сопоставлении с зоной СА1 важен для понимания патогенеза БА.

Исследование процесса аутофагии при БА было проведено Bodí M. и соавт., 2016 в нейронах зоны СА1 гиппокампа. Его результаты, полученные с использованием иммуноблота, свидетельствуют о повышении уровней LC3 и адаптерного белка SQSTM1/p62, обеспечивающего взаимодействие убиквитинилированной дефектной структуры с LC3b. Однако применение указанного метода не позволяет сделать выводы о возможных зональных изменениях [23]. Информация об аналогичных исследованиях зоны СА2 при нормальном старении и при БА в настоящее время в основных библиографических базах данных отсутствует. Таким образом, распределение маркеров аутофагии в гиппокампе при различных вариантах нейродегенерации требует дополнительного изучения.

ЦЕЛЬ: проведение комплексной оценки аутофагии, а также выявление вероятной гетерогенности изменений этого процесса в различных зонах гиппокампа человека при старении и болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на базе лаборатории нейроморфологии Института мозга ФГБНУ «Российский центр неврологии и нейронаук». Все этапы исследования соответствуют законодательству Российской Федерации и нормативным документам Российского центра неврологии и нейронаук, а также одобрены локальным этическим комитетом Российского центра неврологии и нейронаук (протокол № 7-2/24 от 02.09.2024).

Был использован аутопсийный материал, полученный при исследовании трупов (n=15) людей, у которых данный диагноз был подтвер-

жден клинически и патоморфологически (стадия по Braak 3–4), в возрастной группе более 85 лет (диапазон 85–89 лет). Причиной смерти всех пациентов стала тромбоэмболия легочной артерии, развившаяся на фоне гипертонической болезни в сочетании с постинфарктным или атеросклеротическим кардиосклерозом. В качестве групп сравнения был использован аутопсийный материал головного мозга в случаях физиологического старения (без БА) старше 85 лет (85–99 лет), умерших по тем же причинам (n=20); аутопсийный материал головного мозга, полученный от людей 35–45 лет с диагнозом внезапной сердечной смерти (n=20).

Для всех трех групп были установлены единые критерии исключения: острый и перенесенный инсульт, хронические неврологические и нервно-мышечные болезни, заболевания сердечно-сосудистой и других систем с декомпенсацией (выраженной недостаточностью), острое течение инфекционных, инфекционно-аллергических и аутоиммунных заболеваний, злокачественные опухоли любой локализации III–IV стадии, алкоголизм и наркомания. Кроме того, в исследование не включались умершие с асимптомным гемодинамически значимым атеростенозом церебральных артерий (сужение просвета артерий на 70% и более), а также с артериальной гипертонией 3 степени в анамнезе. Для микроскопического анализа вырезались блоки из области гиппокампа (средняя часть височной доли) размерами: длина – 2–2,5 см, ширина – 1–1,5 см, толщина – 0,5–0,7 см. Полученные фрагменты фиксировались на протяжении 24 часов в 10-процентном нейтральном забуференном формалине, после чего проходили стандартную лабораторную проводку (обезвоживание в спирте, обработка ксиолом) и заливались в парафин.

Для иммуногистохимического исследования на микротоме нарезались срезы толщиной 3 мкм, которые затем помещались на положительно-заряженные предметные стекла SuperFrost Plus (производства Thermo Scientific, США). Далее препараты высушивались в термостате при температуре 48°C в течение 24 часов.

При проведении иммуногистохимии применялись следующие антитела:

1. Антитела к белку Ub (поликлональные; Abcam; США, ab140601; разведение – 1:200), маркирующему в клетке белки, предназначенные для протеасомной деградации;

2. Антитела к белку pS65-Ub (поликлональные; MilliporeSigma; Германия, ABS1513-I; разведение – 1:150), селективно маркирующему поврежденные митохондрии;

3. Антитела к белку SQSTM1 (поликлональные, ThermoFisher, США, PA5-20839; разведение – 1:200); адапторному белку, необходимому для взаимодействия убиквитинилированной дефектной структуры с рецепторами аутофагосом;

4. Антитела к белку TOMM20 (моноклональные; Abcam; США, ab56783; разведение – 1:200), маркеру митохондрий;

5. Антитела к белку Beclin-1 (поликлональные; Abcam; США, ab62557; разведение – 1:100), маркеру предшественника аутофагосомы;

6. Антитела к белку LC3b (поликлональные; Abcam; США, ab243506; разведение – 1:200), маркеру аутофагосом;

7. Антитела к белку LAMP2 (поликлональные; Invitrogen; США, PA1-655; разведение – 1:200), маркеру лизосом.

Для детекции связывания антител использовался полимерный набор визуализации NovoLink на основе пероксидазы (Novolink Polymer Detection Systems, Германия). Микрофотографии препаратов получали с помощью микроскопа Leica DMLB (Германия) и цифровой камеры Leica DC-300 (также Германия, предназначена для фотометрических задач). С использованием программы Leica Qwin 2.7 (Германия) в ядрах и перикарионах 150 нейронов на каждый случай оценивали интенсивность иммунопероксидазной реакции в зонах CA1 и CA2 гиппокампа. На изображениях с помощью графического планшета Wacom (Япония) выделяли тела нейронов и их ядра, после чего вычисляли среднюю яркость выделенной области (в условных единицах – 256 градаций для 8-битного изобра-

жения, где 0 соответствует белому, а 255 – черному), вычитая при этом фоновое окрашивание.

Статистическую обработку и визуализацию данных выполняли с использованием программ Statistica 13.0 (Statsoft, США) и GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, Dotmatics, LLC, США). Проверку распределения на нормальность осуществляли по критерию Шапиро–Уилка. Межгрупповые сравнения проводились методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Фишера (LSD). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При старении в нейронах зоны CA1 гиппокампа уровень убиквитина не отличается от показателя группы молодых пациентов. Наблюдается тенденция к снижению реакции маркера поврежденных митохондрий pS65-Ub, и выраженное снижение количества маркера митохондрий TOMM20. Соотношение pS65-Ub/TOMM20, которое показывает долю поврежденных митохондрий, повышено относительно группы молодых пациентов. Обнаружено выраженное увеличение количества маркера адапторного белка p62/SQSTM-1 без значительного изменения других маркеров аутофагии (маркеры предшественника аутофагосом – Beclin-1 (тенденция к снижению), аутофагосом – LC3b, лизосом – LAMP2) (рис. 1).

При БА в нейронах этой зоны уровень убиквитина не отличается от показателя группы старения. Наблюдается тенденция к увеличению количества маркера поврежденных митохондрий pS65-Ub при сохранении низкого уровня маркера митохондрий TOMM20. Соотношение pS65-Ub/TOMM20, показывающее долю поврежденных митохондрий, сохраняется высоким как в группе старения. Обнаружено достоверное снижение количества маркера предшественника аутофагосом – Beclin-1 и увеличение количества маркера адаптерного белка p62/SQSTM-1, маркеров аутофагосом LC3b и лизосом LAMP2 (рис. 1).

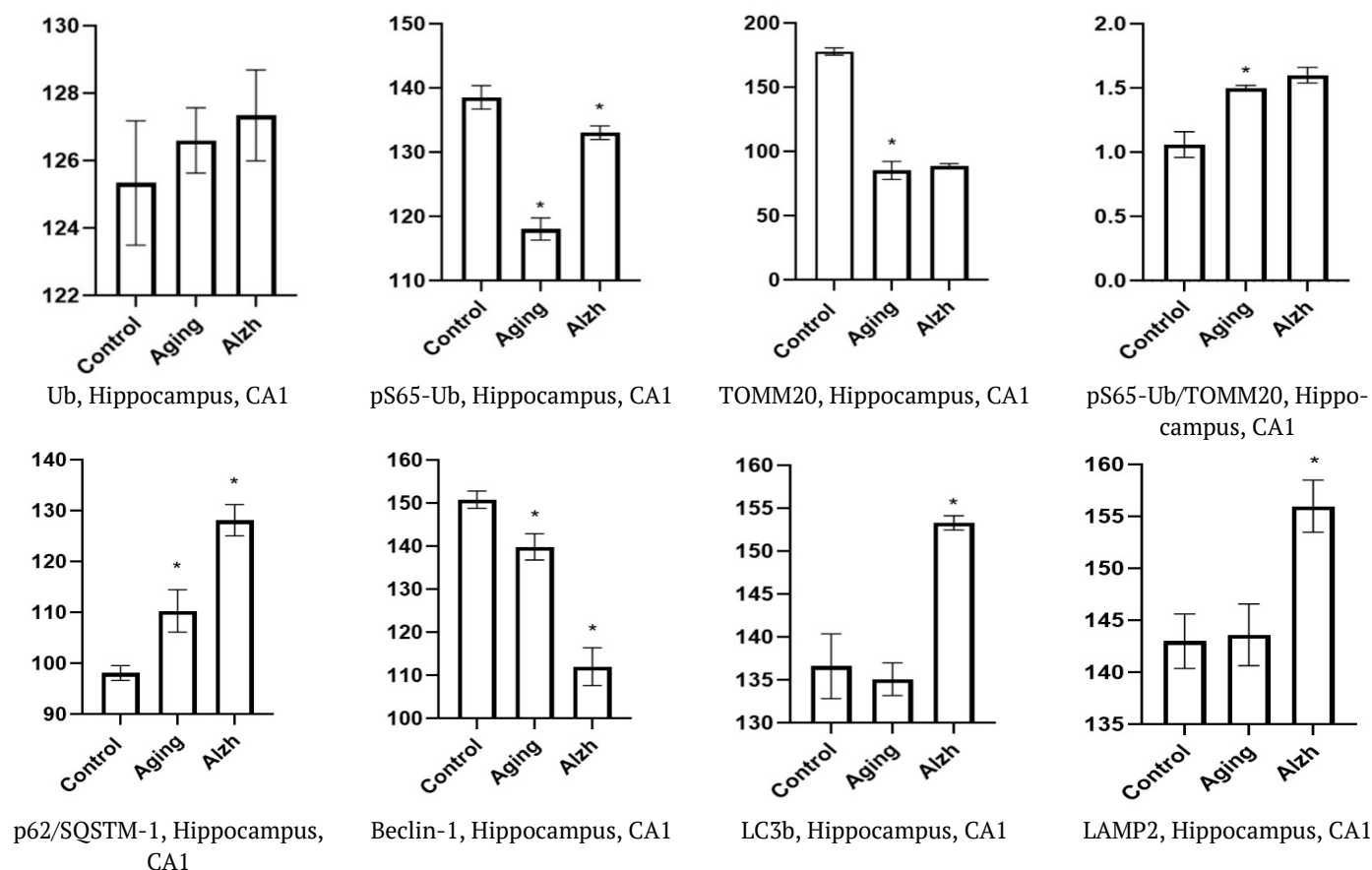


Рис. 1. Результаты морфометрического анализа иммуногистохимического распределения маркеров Ub, pS65-Ub, TOMM20, pS65-Ub/TOMM20, p62/SQSTM-1/ Beclin-1, LC3b, LAMP2 в нейронах зоны CA1 гиппокампа

Fig. 1. Results of morphometric analysis of the immunohistochemical distribution of markers Ub, pS65-Ub, TOMM20, pS65-Ub/TOMM20, p62/SQSTM-1/Beclin-1, LC3b, LAMP2 in neurons of the CA1 zone of the hippocampus

При старении в нейронах зоны CA2 гиппокампа наблюдалось увеличение уровня убиквитина. Количество маркера поврежденных митохондрий pS65-Ub достоверно не изменялось. Обнаружено выраженное снижение количества маркера митохондрий TOMM20. Соотношение pS65-Ub/TOMM20, показывающее долю поврежденных митохондрий, повышено относительно группы молодых пациентов. Уровень маркера аутофагосом LC3b снижался. Количество маркеров адаптерного белка p62/SQSTM-1, предшественника аутофагосом Beclin-1 и маркера лизосом LAMP2 достоверно повышалось (рис. 2).

При БА в нейронах этой зоны наблюдалось снижение уровня убиквитина. Количество маркера поврежденных митохондрий pS65-Ub до-

стоверно не изменялось при сохранении низкого уровня маркера митохондрий TOMM20. Соотношение pS65-Ub/TOMM20, показывающее долю поврежденных митохондрий, сохраняется высоким как в группе старения. Обнаружено снижение количества адаптерного белка p62/SQSTM-1, предшественника аутофагосом Beclin-1 и маркера лизосом LAMP2. Наблюдалось увеличение уровня маркера аутофагосом LC3b (рис. 2).

Дисфункция митохондрий, проявляющаяся накоплением активных форм кислорода и нарушением энергетического обмена, является одним из основных факторов старения, особенно для нейронов, функционирование которых требует высоких энергетических затрат.

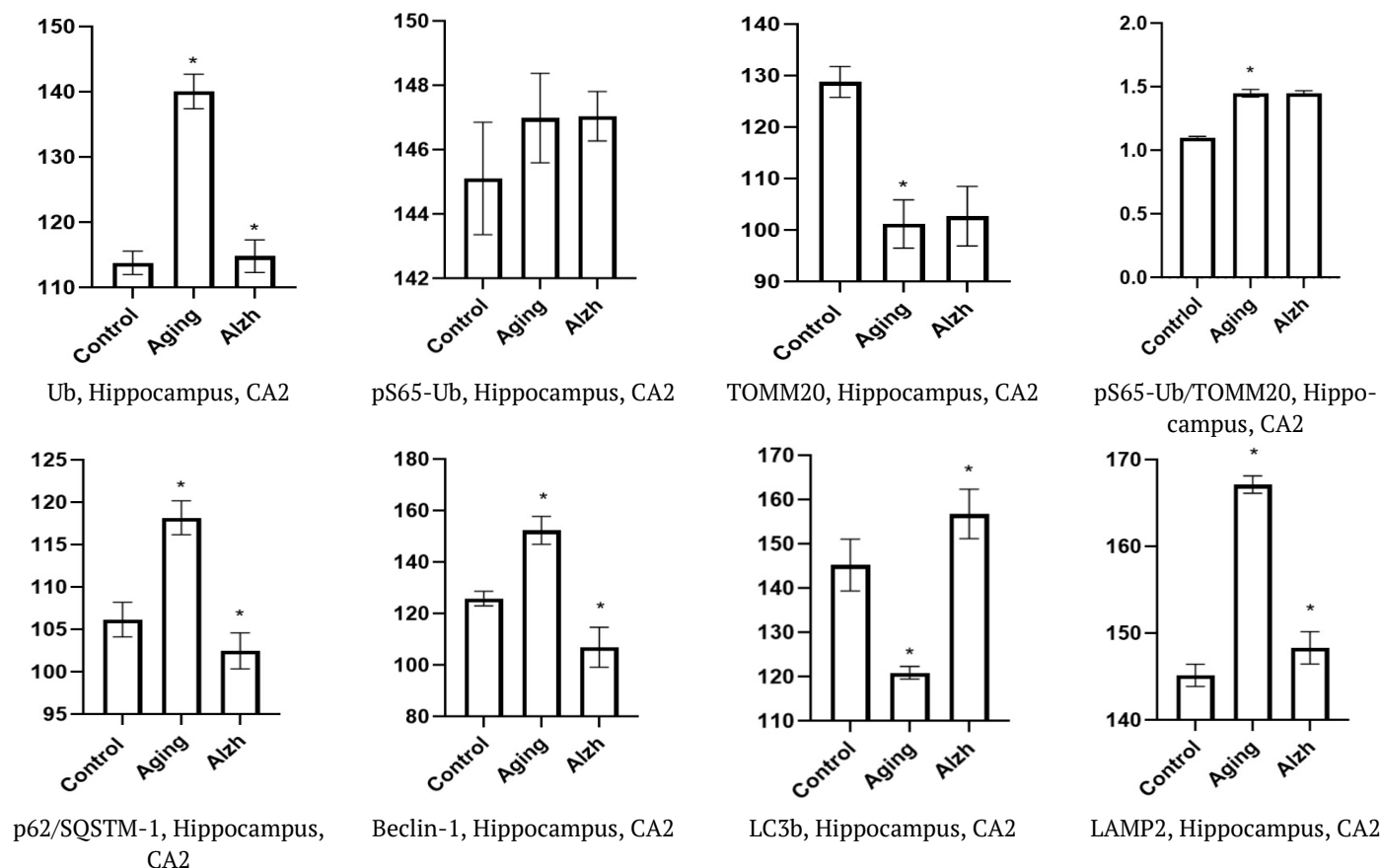


Рис. 2. Результаты морфометрического анализа иммуногистохимического распределения маркеров Ub, pS65-Ub, TOMM20, pS65-Ub/TOMM20, p62/SQSTM-1/ Beclin-1, LC3b, LAMP2 в нейронах зоны CA2 гиппокампа

Fig. 2. Results of morphometric analysis of the immunohistochemical distribution of markers Ub, pS65-Ub, TOMM20, pS65-Ub/TOMM20, p62/SQSTM-1/Beclin-1, LC3b, LAMP2 in neurons of the CA2 zone of the hippocampus

Поддержание клеточного гомеостаза в значительной степени зависит от процесса аутофагии, позволяющего своевременно удалять поврежденные митохондрии. Возраст-зависимое снижение активности этого процесса приводит к накоплению дефектных органелл и увеличению риска развития нейродегенеративных заболеваний [24]. При этом следует иметь в виду, что чрезмерная активация процесса аутофагии также может способствовать энергетической недостаточности и усугублять развитие возраст-зависимых и патологических изменений головного мозга [25].

Результаты настоящего исследования демонстрируют, что в нейронах зоны CA1 гиппокампа при старении не наблюдается изменения концентрации ключевых белков, реализующих

функцию аутофагии: маркеров инициации процесса (Beclin-1), аутофагосом (LC3b) и лизосом (LAMP2). Все они остаются на уровне показателей контрольной группы. При этом в нейронах рассматриваемой зоны выявляется повышенное накопление адапторного белка p62/SQSTM-1, который необходим для взаимодействия убиквитинилированной дефектной структуры с рецепторами аутофагосом. Это может быть связано с увеличением количества дефектных структур, подлежащих селективной аутофагии или с недостаточной эффективностью их расщепления. Обращает на себя внимание наблюдаемая тенденция к снижению количества выявляемых маркером pS65-Ub поврежденных митохондрий. Наряду с этим отмечается еще более выраженное снижение общего количества митохондрий

(маркер TOMM20), что приводит к повышению показателя соотношения pS65-Ub/TOMM20. Снижение общего количества митохондрий может определяться как активизацией митофагии (что менее вероятно в связи с вышеотмеченной тенденцией к снижению уровня pS65-Ub), так и понижением активности митогенеза – процесса образования новых митохондрий [26] что, очевидно, зависит в том числе и от нарушений энергетического метаболизма и создает замкнутый круг нарушений.

Установленное данным исследованием отсутствие повышения уровней маркеров аутофагосом и лизосом может указывать на отсутствие блока терминальных этапов аутофагии. Сопоставление этого с результатами о накоплении белка-адаптера аутофагии p62/SQSTM-1 может указывать на то, что недостаточность компенсаторного ответа системы аутофагии обусловлена нарушениями прежде всего на этапе образования аутофагосом.

Помимо вышесказанного, настоящее исследование показало, что пул общего убиквитина, определяемый в зоне CA1 при старении, неизменен относительно молодых пациентов. Поскольку этот показатель включает свободную и конъюгированную фракции, отсутствие его роста не исключает перераспределения между ними. Так в исследовании на лабораторных животных было показано, что при старении мозга происходят изменения в сайтах убиквитинилирования белков, что приводит к снижению активности убиквитин-протеасомной системы [27]. Это согласуется с предположением об отсутствии устойчивого компенсаторного увеличения резерва убиквитин-протеасомной системы в ответ на накопление дефектных структур.

Таким образом, в нейронах зоны CA1 гиппокампа при старении выявлены изменения маркеров, указывающие на дисбаланс между накоплением дефектных структур (включая поврежденные митохондрии) и снижением реакции систем убиквитинилирования и аутофагии в нейронах зоны CA1.

В этих же нейронах при БА снижен уровень маркера предшественника аутофагосом Beclin-1 по сравнению с группой старения, что может указывать на подавление или истощение основного пути инициации аутофагии. Несмотря на это, количество аутофагосом (маркер LC3b) увеличено, что согласуется с ранее опубликованными данными о повышении уровня LC3b в гомогенате гиппокампа при БА [23]. Такое несоответствие может объясняться несколькими механизмами, которые не исключают друг друга: во-первых, возможна активация Beclin-1-независимых путей образования аутофагосом; во-вторых, накопление аутофагосом возможно вследствие нарушения поздних этапов аутофагии – замедления слияния с лизосомами или снижение деградационной функции лизосом [28].

Количество лизосом (маркер LAMP2) также повышено по сравнению с группой старения. Этот рост может иметь двойственный характер: с одной стороны, он может отражать компенсаторное увеличение лизосомального компонента аутофагии, с другой – накопление поврежденных лизосом, которые становятся субстратом для селективной аутофагии (лизофагии) [29]. Последнее предположение согласуется с данными литературы о нарушении функции лизосом при БА, более того, лизосомы считаются основным местом внутриклеточного накопления токсичного бета-амилоида. Для уточнения этой гипотезы, необходимы дальнейшие исследования функционального состояния лизосомального компартмента.

Общий пул убиквитина в нейронах зоны CA1 при БА остается неизменным по сравнению с группой старения. При этом наблюдается тенденция к повышению количества поврежденных митохондрий, выявляемых маркером pS65-Ub, и выраженное снижение общего количества митохондрий (маркер TOMM20). Как и при старении, увеличение соотношения pS65-Ub/TOMM20 может отражать как увеличение доли поврежденных митохондрий в общем митохондриальном пуле, так и сокращение общего количества функционирующих митохондрий. В отличие от

старения, в случае БА наблюдается тенденция к росту абсолютного числа поврежденных митохондрий, что предполагает реальное увеличение нагрузки на механизмы, реализующие митофагию. Вместе с тем, накопление белка p62/SQSTM-1, необходимого для взаимодействия убиквитинилированной дефектной структуры с рецепторами аутофагосом, выраженное в большей степени, чем при старении, согласуется с предположением о повышенной нагрузке на систему селективной аутофагии в том числе, за счет увеличения пула дефектных митохондрий.

Таким образом, при БА в нейронах зоны CA1 на фоне высокой нагрузки дефектными структурами очевидно имеет место дисрегуляция аутофагии на нескольких уровнях: наблюдаются снижение Beclin-1-зависимой инициации аутофагии и признаки блока ее терминальных этапов, проявляющиеся накоплением белка p62/SQSTM-1, необходимого для взаимодействия убиквитинилированной дефектной структуры с рецепторами аутофагосом, накоплением аутофагосом и лизосом, что отличает процесс нейродегенерации при БА, от такового при старении нейронов этой зоны гиппокампа.

В нейронах зоны CA2 при старении наблюдается увеличение количества иницирующего аутофагоцитоз Beclin-1 и маркера лизосом LAMP2. Однако, количество зрелых аутофагосом (маркер LC3b) снижается, что может указывать на нарушение процесса образования аутофагосом – несмотря на сигнал к инициации, формирование зрелых аутофагосом, вероятно, неэффективно.

При этом по результатам исследования отмечается увеличение общего пула убиквитина, что может отражать эффективный ответ на клеточный стресс, поскольку убиквитин выступает в роли системы контроля качества, маркируя поврежденные белки (количество которых при патологических условиях возрастает) для дальнейшего распознавания адаптерными белками с целью утилизации в аутофагосомах [27]. Напомним, что в нейронах зоны CA1 такого изменения количества убиквитина при старении не наблю-

далось, что может отражать снижение эффективности системы контроля качества при очевидном накоплении дефектных структур. Помимо этого, в нейронах зоны CA2 наблюдается увеличение количества убиквитинилированных структур, маркированных белком p62/SQSTM-1 и предназначенных для взаимодействия с рецепторами аутофагосом, а также повышение доли поврежденных митохондрий (повышение соотношения pS65-Ub/TOMM20 на фоне снижения показателя TOMM20), что свидетельствует об увеличении нагрузки на систему аутофагии при старении в нейронах зоны CA2 при сопутствующем нарушении энергетического метаболизма.

Таким образом, в нейронах зоны CA2 есть признаки очевидно малоэффективной реакции системы аутофагии на накопление поврежденных структур, в то время как в нейронах зоны CA1 такой реакции не обнаружено. Это позволяет предположить различный характер уязвимости нейронов зон CA1 и CA2 при нейродегенерации, ассоциированной со старением: в CA1 преобладает отсутствие компенсаторного ответа, в CA2 – неэффективность образования аутофагосом.

Реакция регуляторных белков аутофагии в нейронах зоны CA2 при БА отличается от таковой при старении. Уровень белка предшественника аутофагосом Beclin-1 снижен, что соответствует данным о нарушении инициации аутофагии при БА [30]. Однако количество аутофагосом (маркер LC3b), напротив, увеличивается, как и в нейронах зоны CA1 при БА, что может объясняться возможной активацией Beclin-1-независимых путей образования аутофагосом [31], а также замедлением созревания или слияния аутофагосом с лизосомами. В пользу последнего предположения может свидетельствовать снижение лизосомального маркера LAMP2 при БА по сравнению с группой старения. Отсутствие компенсаторного увеличения количества лизосом на фоне сохраняющейся нагрузки может ограничивать терминальный этап аутофагии. В этом случае, рост числа аутофагосом отражает не столько усиление образования,

сколько нарушение их эффективной и своевременной деградации.

Пул общего убиквитина снижен по сравнению со группой старения и не отличается от показателей контрольной группы. Аналогичным образом изменяется количество структур, маркированных белком p62/SQSTM-1 для дальнейшего взаимодействия убиквитинилированной дефектной структуры с рецепторами аутофагосом. Это может указывать на отсутствие характерного для физиологического старения накопления убиквитина и субстратов, подлежащих деградации.

Интересны данные, касающиеся деградации поврежденных митохондрий. Количество митохондрий, маркированных pS65-Ub, достоверно не изменяется по отношению к другим исследованным группам и этот показатель характеризуется значительной волатильностью, что, очевидно, требует дополнительных исследований и обсуждений. При этом общее количество митохондрий (маркер TOMM20) снижается, а отношение pS65-Ub/TOMM20 повышается, что свидетельствует о возрастании доли поврежденных митохондрий, направляемых на митофагию, в общем пуле этих структур, аналогично тому, что наблюдается при старении. Указанные изменения свидетельствуют о нарушении энергообеспечения клеточного метаболизма, в том числе и процессов аутофагии.

Таким образом, в нейронах зоны CA2 при БА нарушены, вероятнее всего, поздние этапы аутофагического процесса (слияние аутофагосом с лизосомами и их деградация), тогда как при старении ключевым изменением является снижение образования аутофагосом на фоне компенсаторного увеличения количества лизосом. Очевидно, что это различие должно быть учтено при разработке новых методов терапии. Так, при старении мишенью воздействия может являться процесс образования аутофагосом, в то время как при БА активация этого процесса может привести к патологическому накоплению аутофагосом и акцент должен смещаться на этапы созревания и слияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии зональной гетерогенности старения гиппокампа. В нейронах зоны CA2 выявляется компенсаторная реакция системы аутофагии (увеличение маркеров инициации процесса и лизосомального ответа), которая оказывается неэффективной из-за дефекта образования аутофагосом. В нейронах зоны CA1 не обнаружено признаков компенсаторной активации аутофагии в ответ на нагрузку, что приводит к накоплению дефектных структур.

Возможно, именно эти выявляемые различия определяют более выраженные изменения эпизодической и пространственной памяти (CA1) при старении, при относительной более длительной сохранности социальной памяти (CA2). Несмотря на то, что при БА нейроны зон CA1 и CA2 характеризуются рядом общих признаков (снижение Beclin-1-зависимой инициации аутофагии и накопление аутофагосом), зональная специфичность изменений также ярко выражена. Нейроны зон CA1 и CA2 демонстрируют принципиально разные изменения маркеров pS65-Ub, p62/SQSTM-1 и LAMP2, что указывает на гетерогенность патологических процессов. Полученные различия между CA1 и CA2 при БА, безусловно, требуют проведения дополнительных исследований для выяснения причин такой зональной специфичности (разная уязвимость нейронов, особенности регуляции аутофагии, различия в микроокружении) и возможной связи этих молекулярных особенностей с известной селективной уязвимостью зоны CA1 при БА. Выявленные нарушения терминальной стадии аутофагии делают процесс слияния аутофагосом с лизосомами перспективной мишенью для разработки таргетных терапевтических стратегий, направленных на восстановление эффективного клиренса дефектных структур в нейронах.

Литература

References

- 1 Stavoe AKH, Holzbaur ELF. Autophagy in Neurons. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2019;35:477–500. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100818-125242>
- 2 Sidibe DK, Vogel MC, Maday S. Organization of the autophagy pathway in neurons. *Curr Opin Neurobiol.* 2022;75:102554. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102554>
- 3 Yang L, Yang H, Zhang M, Zhang F, Liu X, Zhang Z, Wang J, Chen X, Wang Y, Zhang R, Li W. The role of TOMM20 in Mediating TERT translocation to mitochondria and its impact on mitophagy in membranous nephropathy. *BMC Nephrol.* 2026. <https://doi.org/10.1186/s12882-026-04910-4>
- 4 Nixon RA. Autophagy-lysosomal-associated neuronal death in neurodegenerative disease. *Acta Neuropathol.* 2024;148(1):42. <https://doi.org/10.1007/s00401-024-02799-7>
- 5 Palmer JE, Wilson N, Son SM, Obrocki P, Wrobel L, Rob M, Takla M, Korolchuk VI, Rubinsztein DC. Autophagy, aging, and age-related neurodegeneration. *Neuron.* 2025;113(1):29–48. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2024.09.015>
- 6 Kiriya Y, Nohi H. The Function of Autophagy in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci.* 2015;16(11):26797–812. <https://doi.org/10.3390/ijms161125990>
- 7 Lee YK, Lee JA. Role of the mammalian ATG8/LC3 family in autophagy: differential and compensatory roles in the spatiotemporal regulation of autophagy. *BMB Rep.* 201;49(8):424–30. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2016.49.8.081>
- 8 Shilovsky GA. [p62: Intersection of Antioxidant Defense and Autophagy Pathways]. *Mol Biol (Mosk).* 2024 Sep-Oct;58(5):703–718. Russian. <https://doi.org/10.31857/S0026898424050036>
- 9 Rubio-Tomás T, Sotiriou A, Tavernarakis N. The interplay between selective types of (macro)autophagy: Mitophagy and xenophagy. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2023;374:129–157. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2022.10.003>
- 10 Eskelinen EL. Roles of LAMP-1 and LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol Aspects Med.* 2006;27(5-6):495–502. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2006.08.005>
- 11 Duan Y, Han C, Zheng H, Yu J, Luo M. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias from 1990 to 2021: findings from the Global Burden of Disease Study 2021. *Front Aging Neurosci.* 2025;17:1678212. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2025.1678212>
- 12 Twiss E, McPherson C, Weaver DF. Global Diseases Deserve Global Solutions: Alzheimer's Disease. *Neurol Int.* 2025 Jun 14;17(6):92. <https://doi.org/10.3390/neurolint17060092>
- 13 Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991;82(4):239–59. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- 14 Fjell AM, McEvoy L, Holland D, Dale AM, Walhovd KB. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. What is normal in normal aging? Effects of aging, amyloid and Alzheimer's disease on the cerebral cortex and the hippocampus. *Prog Neurobiol.* 2014;117:20–40. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2014.02.004>
- 15 Ye R, Goodheart AE, Locascio JJ, Peterer C, Properzi M, Thibault EG, Chuba E, Johnson KA, Brickhouse MJ, Touroutoglou A, Growdon JH, Dickerson BC, Gomperts SN. Differential Vulnerability of Hippocampal Subfields to Amyloid and Tau Deposition in the Lewy Body Diseases. *Neurology.* 2024;102(12):e209460. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000209460>
- 16 Antharam V, Collingwood JF, Bullivant JP, Davidson MR, Chandra S, Mikhaylova A, Finnegan ME, Batich C, Forder JR, Dobson J. High field magnetic resonance microscopy of the human hippocampus in Alzheimer's disease: quantitative imaging and correlation with iron. *Neuroimage.* 2012;59(2):1249–60. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.08.019>
- 17 Adler DH, Wisse LEM, Ittyerah R, Pluta JB, Ding SL, Xie L, Wang J, Kadivar S, Robinson JL, Schuck T, Trojanowski JQ, Grossman M, Detre JA, Elliott MA, Toledo JB, Liu W, Pickup S, Miller MI, Das SR, Wolk DA, Yushkevich PA. Characterizing the human hippocampus in aging and Alzheimer's disease using a computational atlas derived from ex vivo MRI and histology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(16):4252–4257. <https://doi.org/10.1073/pnas.1801093115>
- 18 Zhao F, Behnisch T. The Enigmatic CA2: Exploring the Understudied Region of the Hippocampus and Its Involvement in Parkinson's Disease. *Biomedicines.* 2023 Jul 14;11(7):1996. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071996>
- 19 Tzakis N, Holahan MR. Social Memory and the Role of the Hippocampal CA2 Region. *Front Behav Neurosci.* 2019;13:233. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00233>
- 20 Correa J, Sablani S, Wasfi M, Correa C, Bandelow S. Age dependent seizure susceptibility of CA2 hippocampal neurons. *Front Cell Neurosci.* 2025;19:1715872. <https://doi.org/10.3389/fncel.2025.1715872>
- 21 Oliva A, Fernandez-Ruiz A, Karaba LA. CA2 orchestrates hippocampal network dynamics. *Hippocampus.* 2023;33(3):241–251. <https://doi.org/10.1002/hipo.23495>
- 22 Rey CC, Robert V, Bouisset G, Loisy M, Lopez S, Cattaud V, Lejards C, Piskorowski RA, Rampon C, Chevalere V, Verret L. Altered inhibitory function in hippocampal CA2 contributes in social memory deficits in Alzheimer's mouse model. *iScience.* 2022;25(3):103895. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103895>

- 23 Bordi M, Berg MJ, Mohan PS, Peterhoff CM, Alldred MJ, Che S, Ginsberg SD, Nixon RA. Autophagy flux in CA1 neurons of Alzheimer hippocampus: Increased induction overburdens failing lysosomes to propel neuritic dystrophy. *Autophagy*. 2016;12(12):2467–2483. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1239003>
- 24 Sukhorukov VS, Yegorova AV, Romanenko AS, Ryabova MS, Krasil'nikova AP. Mitofagiya pri vozrast-zavisimoy neyrogeneratsii. *ACTA NATURAE*. 2025;17,4(67). <https://doi.org/10.32607/actanaturae>. In Russian
- 25 Dou C, Zhang Y, Zhang L, Qin C. Autophagy and autophagy-related molecules in neurodegenerative diseases. *Animal Model Exp Med*. 2023;6(1):10–17. <https://doi.org/10.1002/ame2.12229>
- 26 Shan W, Liu Y, Tang R, Li H, Yang H, Lin L. Targeting mitochondrial autophagy for anti-aging. *Cell Death Discov*. 2025 Dec;12(1):78. <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02913-y>
- 27 Marino A, Di Fraia D, Panfilova D, Sahu AK, Minetti A, Omrani O, Cirri E, Ori A. Aging and diet alter the protein ubiquitylation landscape in the mouse brain. *Nat Commun*. 2025;16(1):5266. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-60542-6>
- 28 Kim Y, Ha TY, Lee MS, Chang KA. Regulatory Mechanisms and Therapeutic Implications of Lysosomal Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Int J Biol Sci*. 2025 Jan 13;21(3):1014–1031. <https://doi.org/10.7150/ijbs.103028>
- 29 Papadopoulos C, Kravic B, Meyer H. Repair or Lysophagy: Dealing with Damaged Lysosomes. *J Mol Biol*. 2020;432(1):231–239. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.08.010>
- 30 Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A, Ojala J, Haapasalo A, Soininen H, Hiltunen M. Impaired autophagy and APP processing in Alzheimer's disease: The potential role of Beclin 1 interactome. *Prog Neurobiol*. 2013;106–107:33–54. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.06.002>
- 31 Chu CT, Zhu J, Dagda R. Beclin 1-independent pathway of damage-induced mitophagy and autophagic stress: implications for neurodegeneration and cell death. *Autophagy*. 2007;3(6):663–6. <https://doi.org/10.4161/auto.4625>

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сухоруков Владимир Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, Российский центр неврологии и нейро-наук; Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия; ORCID: 0000-0002-0552-6939, e-mail: vsukhorukov@gmail.com

Баранич Татьяна Ивановна, кандидат медицинских наук, Российский центр неврологии и нейронаук; Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия; ORCID: 0000-0002-8999-9986, e-mail: baranich_tatyana@mail.ru

Вельц Ольга Владимировна, Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия; ORCID: 0009-0003-0223-7335, e-mail: welzolg@mail.ru

Воронков Дмитрий Николаевич, кандидат медицинских наук, Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия; ORCID: 0000-0001-5222-5322, e-mail: voronkovdm@gmail.com

Окулова Ксения Максимовна, Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия; ORCID: 0009-0009-8464-9766, e-mail: kseniaokul2101@gmail.com

Егорова Анна Валериевна, Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия; ORCID: 0000-0001-7112-2556, e-mail: av_egorova@bk.ru

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Vladimir S. Sukhorukov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Russian Center of Neurology and Neurosciences; Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0002-0552-6939, e-mail: vsukhorukov@gmail.com

Tat'yana I. Baranich, Candidate of Medical Sciences, Russian Center of Neurology and Neurosciences; Sechenov First Moscow State Medical University; Moscow, Russia; ORCID: 0000-0002-8999-9986 e-mail: baranich_tatyana@mail.ru

Ol'ga V. Vel'ts, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia; ORCID: 0009-0003-0223-7335, e-mail: welzolg@mail.ru

Dmitriy N. Voronkov, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-5222-5322, e-mail: voronkovdm@gmail.com

Kseniya M. Okulova, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia; ORCID: 0009-0009-8464-9766, e-mail: kseniaokul2101@gmail.com

Anna V. Yegorova, Researcher, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-7112-2556, e-mail: av_egorova@bk.ru

Щербак Екатерина Вадимовна, Городская клиническая больница № 1 имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия; ORCID: 0009-0006-0346-4523,
e-mail: scherbakev2@zdrav.mos.ru

Глинкина Валерия Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, Российский центр неврологии и нейронаук, Москва, Россия; ORCID: 0000-0001-8708-6940,
e-mail: vglinkina@mail.ru

Yekaterina V. Shcherbak, Pirogov City Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia;
ORCID: 0009-0006-0346-4523,
e-mail: scherbakev2@zdrav.mos.ru

Valeriya V. Glinkina, Doctor of Medical Sciences, Professor, Russian Center of Neurology and Neurosciences, Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-8708-6940,
e-mail: vglinkina@mail.ru