

МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ГИППОКАМПА МЫШЕЙ ЛИНИИ 5XFAD ПОСЛЕ КОГНИТИВНОЙ НАГРУЗКИ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Ю.К. Комлева^{1*}, А.С. Аверчук¹, Д.В. Чистяков^{2,3}, В.Г. Васильев³, В.А. Ивлев³, В.И. Жданкина¹, М.В. Кукла¹,
А.Н. Лукьянчук^{1,4}, И. В. Потапенко¹, А.Б. Салмина¹

¹Российский центр неврологии и нейронаук, 125367, Москва, Волоколамское ш., 80; *e-mail: yuliakomleva@mail.ru

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ, 119234, Москва, Ленинские горы, 1

³Российский университет дружбы народов им. П. Лумумбы, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

⁴Красноярский государственный медицинский университет им. проф. Войно-Ясенецкого, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

Болезнь Альцгеймера (БА) всё чаще рассматривают как нейродегенеративное заболевание, связанное с нарушением энергетического метаболизма мозга, что способствует развитию синаптических и когнитивных дисфункций. Хотя особенности метаболических нарушений при БА хорошо охарактеризованы в состоянии покоя, значительно меньше известно о реакции гиппокампа на когнитивную стимуляцию, требующую высокой метаболической гибкости. В настоящем пилотном исследовании с использованием методов *in vivo* микродиализа и высокоразрешающей ЯМР-спектроскопии проведён анализ метаболического профиля интерстициальной жидкости гиппокампа у трансгенных мышей линии 5xFAD и животных дикого типа (C57BL/6) на 7 и 28 сутки после когнитивного обучения в парадигме условно-пассивного избегания. Среди исследованных метаболитов статистически достоверные различия между группами выявлены только для ацетона: у животных линии 5xFAD на 28 сутки его концентрация была значительно ниже по сравнению с контролем, что может отражать ограниченную способность к поддержанию кетонового метаболизма в отсроченный постнагрузочный период. Другие метаболиты (ацетат, лактат, капрат, изобутират и глицин) не продемонстрировали значимых межгрупповых различий, однако наблюдавшиеся изменения могут указывать на сдвиги в использовании альтернативных энергетических субстратов. Полученные данные свидетельствуют о снижении метаболической пластичности гиппокампа у трансгенных животных, особенно в поздней фазе после когнитивной стимуляции, что потенциально может ограничивать долговременную когнитивную адаптацию. Несмотря на ограничения пилотного исследования, результаты подчёркивают информативность подхода, сочетающего метаболическое профилирование *in vivo*, для раннего выявления метаболических нарушений и поиска потенциальных биомаркеров нейродегенеративных процессов при БА.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; гиппокамп; микродиализ; ЯМР-спектроскопия; метаболизм; кетоновые тела

DOI: 10.18097/BMCRM00291

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространённой формой деменции и ведущей причиной возрастной когнитивной дисфункции во всём мире, охватывая до 70% всех случаев деменции [1]. Патологическое снижение когнитивных функций при БА развивается медленно, но прогрессирующе и необратимо, приводя к когнитивной дисфункции, нарушению памяти и поведенческим изменениям. Несмотря на интенсивные исследования, патогенез заболевания остаётся не до конца изученным. По имеющимся данным, около 70% факторов риска БА связаны с генетическими и метаболическими нарушениями, включая ожирение, сахарный диабет и гипертонию [2, 3].

Современные представления о патофизиологии БА выходят за рамки традиционной амилоидной гипотезы и включают в себя нарушение энергетического метаболизма головного мозга, особенно в гиппокампе – структуре, которая критически вовлечена в процессы памяти и обучения [4]. На ранних доклинических стадиях заболевания наблюдаются митохондриальная дисфункция, снижение активности ферментов окислительного фосфорилирования,

переключение на анаэробный гликолиз и активация глияльных клеток [5–9].

Снижение метаболизма глюкозы является одним из ранних и наиболее устойчивых биомаркеров БА, наблюдающимся задолго до клинической манифестации заболевания [10]. Гипометаболизм глюкозы нарушает работу как гликолиза, так и цикла трикарбоновых кислот, что приводит к снижению уровня пирувата и цитрата [10]. В условиях энергетического дефицита мозг активирует альтернативные пути метаболизма, включая использование кетоновых тел (ацетона, ацетоацетата, β -гидроксibuтирата) для поддержания функции нейронов. Такая адаптация рассматривается как компенсаторный механизм, направленный на поддержание энергетического гомеостаза в условиях метаболического стресса [11–13].

Несмотря на наличие обширных данных о нарушении обмена глюкозы, например, вследствие развития инсулинорезистентности при БА, роль альтернативных энергетических субстратов (включая кетоновые тела и короткоцепочечные жирные кислоты), а также их влияние на когнитивные функции, в основном изучали в клеточных и животных моделях или в рамках вмешательств, таких



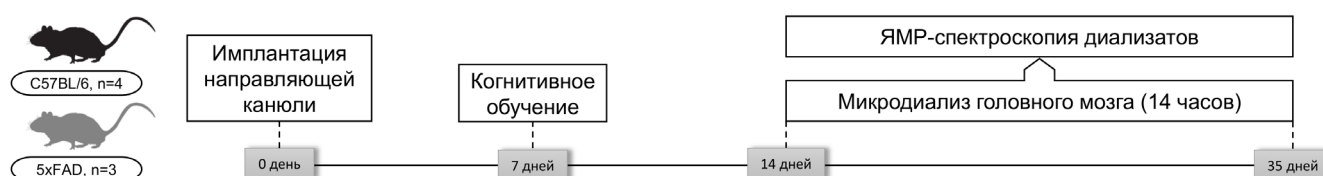


Рисунок 1. Общая схема эксперимента.

как кетогенная диета [14]. В клинических обсервационных исследованиях повышенный уровень пирувата в спинномозговой жидкости был зафиксирован у пациентов с БА и сосудистой деменцией [15, 16], тогда как снижение концентрации цитрата и сукцината в плазме ассоциировалось с ускоренным когнитивным снижением [17].

Предыдущие исследования на трансгенных моделях БА, включая мышей линии 5xFAD, продемонстрировали ранние нарушения в энергетическом метаболизме головного мозга задолго до появления когнитивных симптомов [18]. Однако большинство работ ограничивались анализом в состоянии покоя и не учитывали влияние когнитивной нагрузки, которая может дополнительно усиливать метаболические расстройства за счёт увеличенного спроса на энергию в нейронах и глии в активных регионах мозга [19]. Когнитивная стимуляция, особенно при обучении в парадигме условно-пассивного избегания, активно задействует гиппокампальные сети и сопровождается усилением гликолиза, увеличением потребления глюкозы и лактата, а также активацией астроцитов и развитием окислительного стресса [20]. Ранее мы показали, что у мышей линии 5xFAD с генетической моделью БА к 28 суткам после когнитивной нагрузки происходит манифестация неврологического дефицита и нарушений нейрогенеза и ангиогенеза в гиппокампе [21]. Поэтому важно оценить, как меняется метаболическая пластичность гиппокампа в ответ на когнитивную нагрузку у животных с моделью БА.

В настоящем исследовании с использованием методов *in vivo* микродиализа и ЯМР-спектроскопии были охарактеризованы изменения в метаболическом профиле интерстициальной жидкости гиппокампа у трансгенных мышей 5xFAD и животных дикого типа на 7 и 28 сутки после когнитивного обучения.

МЕТОДИКА

Животные

В исследовании использовали самцов мышей дикого типа C57BL/6, полученных из Питомника «Столбовая» Научного центра биомедицинских технологий (Россия) (контроль, $n=4$), и трансгенных мышей линии B6SLJ-Tg(APPs^{SwFlon},PSEN1^{M146LL286V})6799Vas, полученных из Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии РАН (Россия) (5xFAD, $n=3$), представляющих модель болезни Альцгеймера. Возраст животных на момент начала эксперимента составлял 6 месяцев. Всех животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом цикле свет/темнота, с неограниченным доступом к корму и воде.

Когнитивное обучение

Для индукции когнитивной нагрузки использовали парадигму условно-пассивного избегания (passive avoidance task) с использованием специализированной установки («Panlab Harvard Apparatus», Испания), состоящей из светлой и тёмной камер, разделённых гильотинной дверью. В первый день животные проходили сессию привыкания, в ходе которой их помещали в светлую камеру с открытой дверью, и животные могли свободно перемещаться между камерами. Животных, не вошедших в тёмную камеру в течение 180 с, исключали из дальнейшего эксперимента. На следующий день проводили обучающую сессию: при входе животного в тёмную камеру дверь автоматически закрывалась, и через решетчатый пол подавался слабый электрический разряд (0.2 мА, 50 Гц, 3 с). После воздействия животных возвращали в индивидуальные клетки. Данная модель используется для оценки индуцированной когнитивной пластичности и активации гиппокампальных нейросетей [22].

Микродиализ головного мозга

Для сбора интерстициальной жидкости гиппокампа *in vivo* использовали методику микродиализа у свободноподвижных животных на 7 и 28 сутки после когнитивного обучения. За 7 суток до когнитивного обучения в область CA1 гиппокампа (координаты по Paxinos and Franklin, AP: -2.0 мм, ML: -1.8 мм, DV: -1.3 мм) под анестезией имплантировали направляющие канюли. В день сбора интерстициальной жидкости в направляющие канюли вводили микродиализные зонды CMA7 с длиной активной мембраны 1 мм и молекулярным отсеком 55 кДа («CMA Microdialysis AB», Швеция). Микродиализ осуществляли в течение 14 ч. Аликвоты хранили при -80°C до проведения ЯМР-спектроскопического анализа.

Общая схема эксперимента с детализацией по временным точкам проведения основных манипуляций представлена на рисунке 1.

ЯМР-спектроскопия

Метаболомный анализ образцов проводили с использованием протонной ЯМР-спектроскопии высокого разрешения. 30 мкл образца интерстициальной жидкости смешивали с 200 мкл метанола. Далее образец центрифугировали 5 мин 12000 g , и супернатант концентрировали в токе азота. Далее для пробоподготовки к исследуемому образцу добавляли 500 мкл дейтерированного фосфатного буфера (150 мМ, pH 7.05), содержащего азид натрия (2 мМ) в качестве антибактериального

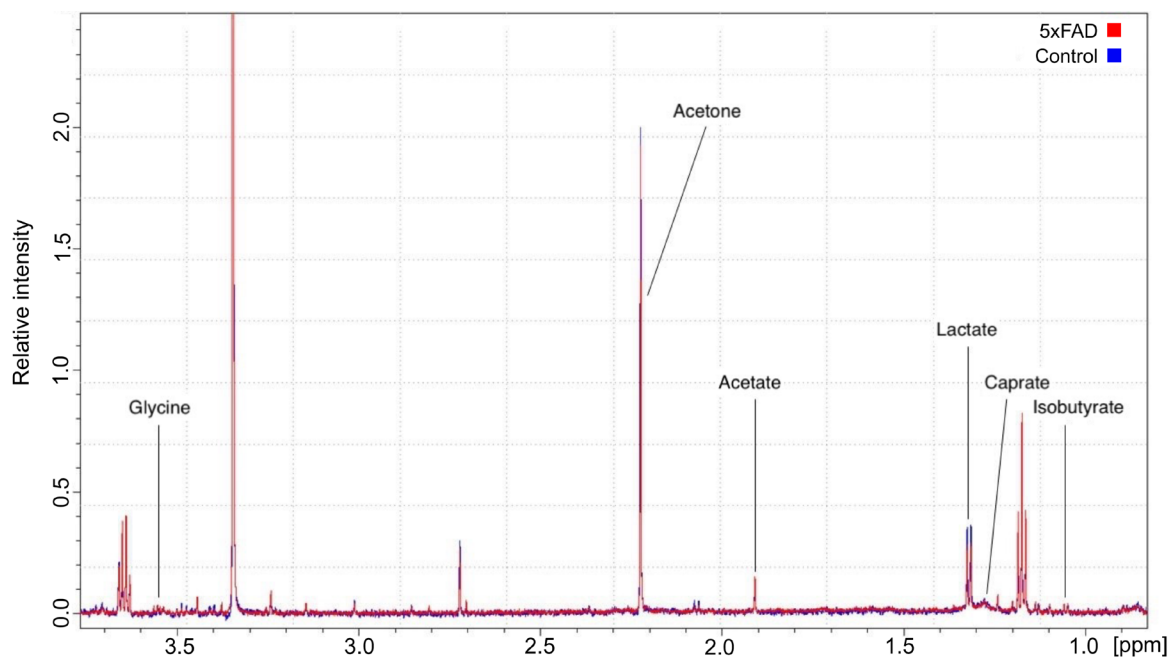


Рисунок 1. Наложенные спектры ЯМР ^1H интерстициальной жидкости гиппокампа мышей линий 5xFAD (красный) и C57BL/6 (синий).

консерванта и натриевой соли дейтерированной триметилсилилпропансульфоновой кислоты (DSS-d_6) (0.1 мМ) в качестве внутреннего стандарта. После встряхивания и центрифугирования (5 мин, 12000 g, комнатная температура) образцы помещали в стандартные ЯМР-пробирки диаметром 5 мм. Спектры регистрировали на спектрометре ЯМР AVANCE Neo 700 МГц («Bruker BioSpin», Германия) с использованием криодатчика Prodigy (Институт фармации и биотехнологии, РУДН, Россия) при температуре 25°C с использованием импульсной последовательности `poesypr1d` (точек данных - 131072, количество пустых сканирований — 4, количество сканирований - 800, ширина спектра — 19.84 м.д., время сбора данных — 4.7 с, релаксационная задержка — 3.0 с). Обработку спектров и количественное определение концентраций метаболитов проводили с помощью программного обеспечения Chenomx NMR Suite v 9.0 («Chenomx Inc.», Канада). В результате для каждого метаболита были установлены концентрации (мМ), отражающие его содержание в интерстициальной жидкости каждого животного за 14-часовой период сбора проб.

Статистический анализ

Данные представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего ($M \pm \text{SEM}$). Статистическую обработку проводили методом двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA) с поправкой Сидака на множественные сравнения (GraphPad Prism 8.0). В качестве факторов рассматривались генотип (C57BL/6 против 5xFAD) и время (7 и 28 суток). Уровень значимости устанавливали как $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Посредством ЯМР-спектроскопии количественно были определены профили концентраций метаболитов, включая глицин, ацетон, ацетат, лактат, капрат и изобутират,

в интерстициальной жидкости гиппокампа мышей линий C57BL/6 и 5xFAD на 7 и 28 суток после когнитивного обучения (рис. 2).

Общая оценка концентраций найденных метаболитов показала, что уровни ацетона и лактата в обеих исследуемых группах существенно превышали концентрации других детектируемых соединений (рис.3). Сравнительный анализ динамики концентрации метаболитов у мышей различных генетических групп в отдаленные сроки после когнитивного обучения выявил статистически значимые изменения уровня ацетона — ключевого маркера содержания кетоновых тел и метаболической пластичности мозга. [23]. Было обнаружено значимое взаимодействие факторов «генотип» $\times$ «время» ($p = 0.0301$). Действительно, на 28 суток после обучения уровень ацетона у мышей линии 5xFAD был достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p = 0.0414$, рис. 3А), тогда как на 7 суток межгрупповые различия отсутствовали ($p = 0.7675$). Полученные данные согласуются с нашими предыдущими результатами, демонстрирующими нарушение формирования навыка условно-пассивного избегания у мышей 5xFAD на 28 суток после обучения [21]. Таким образом, можно предположить ограниченную способность трансгенных животных поддерживать кетоновый метаболизм в отсроченном постнагрузочном периоде, что потенциально может влиять на формирование данного навыка в условиях БА-ассоциированного метаболического стресса. Схожее снижение концентрации на 28-е сутки наблюдалось для лактата и ацетата (рис. 3Б, В), которые, как и ацетон, могут являться альтернативными источниками энергии для нейронов и астроцитов в условиях БА-ассоциированного метаболического стресса [13]. Однако эти изменения не достигли статистической достоверности. В совокупности полученные результаты обосновывают перспективность дальнейших исследований, направленных на изучение роли альтернативных энергетических субстратов в механизмах метаболической пластичности мозга при нейродегенерации, в частности их вклада в энергетическое обеспечение синаптической передачи и консолидации памяти.

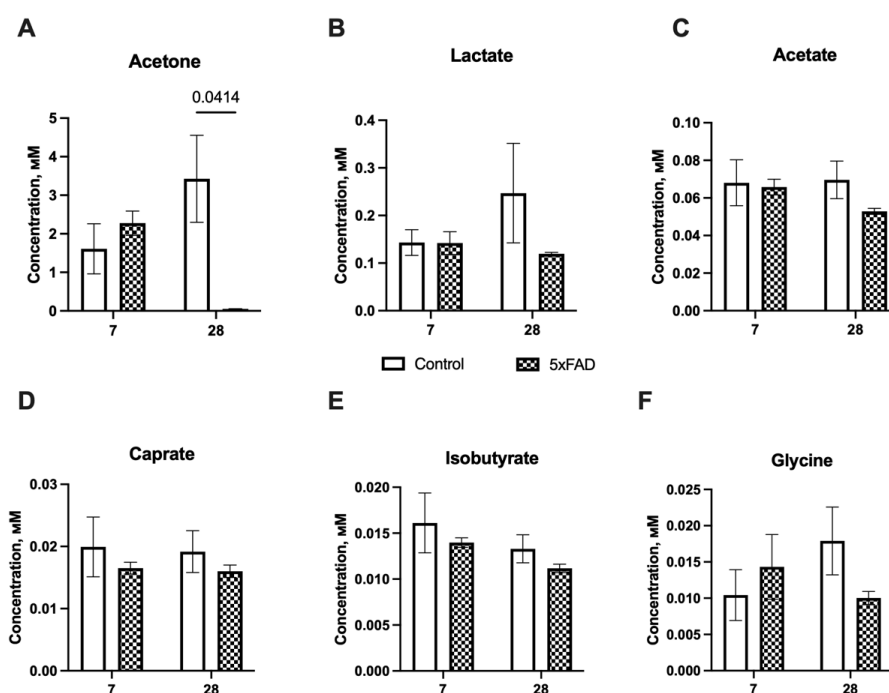


Рисунок 3. Сравнение концентраций метаболитов в интерстициальной жидкости гиппокампа у мышей дикого типа (Контроль) и линии 5xFAD на 7-е и 28-е сутки после обучения. Значения выражены как $M \pm SEM$. Статистический анализ выполнен с использованием Two-way ANOVA с коррекцией Сидака.

Среднецепочечные жирные кислоты, в том числе капроновая кислота, поступают в организм с пищей и синтезируются кишечной микробиотой, легко проникают через гематоэнцефалический барьер и метаболизируются в митохондриях до ацетил-КоА [24]. У мышей линии 5xFAD уровень производной капроновой кислоты был ниже по сравнению с контрольной группой (рис. 3Г). Хотя эти различия не достигли статистической значимости, они согласуются с гипотезой о нарушении липидного обмена при болезни Альцгеймера [25] и снижении доступности среднецепочечных жирных кислот как дополнительных источников энергии [26]. Учитывая нейропротективные и прокогнитивные свойства среднецепочечных жирных кислот [27], дальнейшее изучение терапевтического потенциала препаратов на основе среднецепочечных жирных кислот для коррекции когнитивного дефицита при болезни Альцгеймера представляет научный интерес.

Изобутират, редко изучаемый в контексте нейродегенеративных заболеваний, демонстрировал тенденцию к снижению у мышей линии 5xFAD по сравнению с контрольной группой как на 7, так и на 28 сутки после когнитивного обучения, однако статистическая значимость этих изменений не была достигнута (рис. 3Д). Уровень глицина, выполняющего функции тормозного нейромедиатора и ко-агониста NMDA-рецепторов, также не показал статистически значимой зависимости от факторов «генотип» или «время» (рис. 3Е).

В совокупности полученные данные указывают, что у мышей с генетической моделью БА (линия 5xFAD) в отсроченном периоде после когнитивной нагрузки, когда у них проявляются признаки когнитивного дефицита, формируется специфический метаболический профиль, потенциально характеризующийся ограниченной способностью трансгенных животных поддерживать кетоновый метаболизм. Наиболее отчетливо эти изменения

у животных с моделью БА по сравнению с животными контрольной группы проявляются к 28 суткам, что может свидетельствовать о нарушении метаболической «поддержки» таких процессов, как нейрогенез и неоангиогенез.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании с применением методов *in vivo* микродиализа и ЯМР-спектроскопии была проведена оценка метаболического ответа гиппокампа на когнитивную нагрузку у трансгенных мышей линии 5xFAD и животных дикого типа. Основное внимание было уделено динамике концентраций энергетически значимых и глиально-ассоциированных метаболитов (включая лактат, ацетат, изобутират, ацетон, капрат и глицин). Среди изученных соединений статистически достоверные различия между группами наблюдались только по ацетону, однако выявленные изменения в кетоновом профиле заслуживают отдельного рассмотрения.

Поскольку ацетон является кетоновым телом, а кетоновые тела могут служить альтернативным источником энергии для нейронов при сниженной доступности глюкозы [12], снижение концентрации ацетона в мозге у мышей линии 5xFAD в период, характеризующийся показанной нами ранее манифестацией когнитивного дефицита, нарушениями нейрогенеза и гиппокампального ангиогенеза после когнитивной нагрузки [21], может указывать на ограниченную метаболическую пластичность при болезни Альцгеймера. Этот эффект может быть связан как с нарушением β -окисления жирных кислот, так и с митохондриальной дисфункцией, которые характерны для патогенеза БА [28]. Следует отметить, что концентрация ацетона превосходила таковую для лактата. Высокая концентрация может быть обусловлена процедурой

имплантации зонда, которая индуцирует формирование зоны локального метаболического стресса. В этой области наблюдается активация липолиза в поврежденных клетках, что увеличивает доступность субстратов для кетогенеза, а также развитие транзиторной гипоксии, приводящей к сдвигу энергетического метаболизма в сторону анаэробного гликолиза и усиленной продукции лактата [29–31].

Изменения концентрации других метаболитов не достигали статистической значимости, что может быть связано с ограниченным размером выборки в рамках данного пилотного эксперимента. Тем не менее возможные сдвиги в использовании короткоцепочечных и среднецепочечных жирных кислот (изобутират, капрат), аминокислот (глицин) и соединений, актуальных для реализации нейрон-астроглиального метаболического сопряжения (лактат, ацетат) также требуют внимания. Так, например, изобутират, продукт катаболизма аминокислот с разветвленной цепью и микробного метаболизма, в ряде работ связывается с поддержанием энергетического и редокс-гомеостаза в ЦНС [26]. Капрат как среднецепочечная жирная кислота также может использоваться мозгом в качестве дополнительного энергетического субстрата [26]. Известно, что такие кислоты способны служить дополнительным источником энергии для мозга и повышать эффективность митохондриального окисления [25]. Снижение уровня глицина может влиять как на нарушение аминокислотного метаболизма, так и на регуляцию NMDA-рецепторов [32, 33]. Изменение уровня ацетата может отражать нарушение астроцитарного метаболизма и нейрон-астроглиального метаболического сопряжения [25]. Таким образом, полученные в ходе данного пилотного исследования результаты обуславливают необходимость дальнейшего изучения динамики этих метаболитов на расширенной выборке мышей линии 5xFAD, что в будущем внесет вклад в понимание хронологии развития энергетического дефицита и позволит идентифицировать новые биомаркеры ранних метаболических нарушений при болезни Альцгеймера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненный пилотный анализ метаболитов интерстициальной жидкости гиппокампа методом ЯМР-спектроскопии позволил выявить, что у мышей с моделью болезни Альцгеймера (линия 5xFAD) в отсроченном периоде после когнитивной нагрузки формируется специфический метаболический профиль, характеризующийся тенденцией к снижению концентрации ацетона — ключевого показателя кетонового метаболизма. Данное изменение может отражать ограниченную способность к поддержанию кетонового обмена и, как следствие, сниженную метаболическую гибкость в условиях нейродегенеративного процесса.

Хотя различия по большинству метаболитов не достигли статистической значимости, выявленные тенденции в уровнях ацетата, лактата, капрата и изобутирата указывают на возможные сдвиги в использовании альтернативных энергетических субстратов и в работе механизмов нейрон-астроглиального метаболического сопряжения. Эти результаты согласуются с современными представлениями о метаболических нарушениях при болезни Альцгеймера и подчеркивают необходимость дальнейших исследований с расширением выборки и включением оценки митохондриальных и глиальных маркеров.

Таким образом, полученные данные подтверждают перспективность использования интегрированных подходов *in vivo* микродиализа и ЯМР-спектроскопии для оценки динамики метаболических изменений в гиппокампе при когнитивной нагрузке. Расширение подобных исследований позволит уточнить роль кетоновых тел и короткоцепочечных жирных кислот в поддержании энергетического гомеостаза и когнитивных функций при нейродегенеративных заболеваниях.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры были выполнены в соответствии с международными этическими стандартами обращения с лабораторными животными, с соблюдением принципов гуманности, согласно ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» и были одобрены локальным этическим комитетом (протокол No 5-3/22 от 01.06.2022).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность заведующей лабораторией экспериментальной патологии ЦНС Института мозга Российского центра неврологии и нейронаук к.б.н. Ставровской А.В. за помощь с оперативным вмешательством на мышах.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-00126-П (<https://rscf.ru/en/project/22-15-00126/>) Молекулярные механизмы церебрального ангиогенеза в реализации феномена нейропластичности при хронической нейродегенерации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Conde, R., Oliveira, N., Moraes, E., Amaral, A.P., Sousa, A., Graça, G., Verde, I. (2024) NMR analysis seeking for cognitive decline and dementia metabolic markers in plasma from aged individuals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **238**, 115815. DOI: 10.1016/j.jpba.2023.115815
2. Ezkurdia, A., Ramírez, M.J., Solas, M. (2023) Metabolic syndrome as a risk factor for Alzheimer's disease: a focus on insulin resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**(5), 4354. DOI: 10.3390/ijms24054354
3. Silva, M.V.F., Loures, C.D.M.G., Alve, L.C.V., De Souza, L.C., Borge, K.B.G., Carvalho, M.D.G. (2019) Alzheimer's disease: risk factors and potentially protective measures. *Journal of Biomedical Science*, **26**(1), 33. DOI: 10.1186/s12929-019-0524-y
4. Dias, D., Socado, R. (2025) Beyond amyloid and tau: the critical role of microglia in Alzheimer's disease therapeutics. *Biomedicines*, **13**(2), 279. DOI: 10.3390/biomedicines13020279
5. Wang, W., Zhao, F., Ma, X., Perry, G., Zhu, X. (2020) Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. *Molecular Neurodegeneration*, **15**(1), 30. DOI: 10.1186/s13024-020-00376-6
6. Aran, K.R., Singh, S. (2023) Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Alzheimer's disease—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Aging and Health Research*, **3**(4), 100169. DOI: 10.1016/j.ahr.2023.100169
7. González-Domínguez, R., García-Barrera, T., Gómez-Ariza, J.L. (2014) Metabolomic study of lipids in serum for biomarker discovery in Alzheimer's disease using direct infusion mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **98**, 321–326. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.05.023

8. Maszka, P., Kwasniak-Butowska, M., Cysewski, D., Slawek, J., Smolenski, R.T., Tomczyk, M. (2023) Metabolomic footprint of disrupted energetics and amino acid metabolism in neurodegenerative diseases: perspectives for early diagnosis and monitoring of therapy. *Metabolites*, **13**(3), 369. DOI: 10.3390/metabo13030369
9. Xu, L., Liu, R., Qin, Y., Wang, T. (2023) Brain metabolism in Alzheimer's disease: biological mechanisms of exercise. *Translational Neurodegeneration*, **12**(1), 33. DOI: 10.1186/s40035-023-00364-y
10. Yan, X., Hu, Y., Wang, B., Wang, S., Zhang, X. (2020) Metabolic dysregulation contributes to the progression of Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, **14**, 530219. DOI: 10.3389/fnins.2020.530219
11. Suresh, V.V., Sivaprakasam, S., Bhutia, Y.D., Prasad, P.D., Thangaraju, M., Ganapathy, V. (2025) Not just an alternative energy source: diverse biological functions of ketone bodies and relevance of HMGCS2 to health and disease. *Biomolecules*, **15**(4), 580. DOI: 10.3390/biom15040580
12. Jensen, N.J., Wodschow, H.Z., Nilsson, M., Rungby, J. (2020) Effects of ketone bodies on brain metabolism and function in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(22), 8767. DOI: 10.3390/ijms21228767
13. Komleva, Y., Chernykh, A., Lopatina, O., Gorina, Y., Lokteva, I., Salmina, A., Gollasch, M. (2021) Inflamm-aging and brain insulin resistance: new insights and role of life-style strategies on cognitive and social determinants in aging and neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*, **14**, 618395. DOI: 10.3389/fnins.2020.618395
14. Ramezani, M., Fernando, M., Eslick, S., Asih, P.R., Shadfar, S., Bandara, E.M.S., Hillebrandt, H., Meghwar, S., Shahriari, M., Chatterjee, P., Thota, R., Dias, C.B., Garg, M.L., Martins, R.N. (2023) Ketone bodies mediate alterations in brain energy metabolism and biomarkers of Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*, **17**, 1297984. DOI: 10.3389/fnins.2023.1297984
15. Aquilani, R., Cotta Ramusino, M., Maestri, R., Iadarola, P., Boselli, M., Perini, G., Boschi, F., Dossena, M., Bellini, A., Buonocore, D., Doria, E., Costa, A., Verri, M. (2023) Several dementia subtypes and mild cognitive impairment share brain reduction of neurotransmitter precursor amino acids, impaired energy metabolism, and lipid hyperoxidation. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **15**, 1237469. DOI: 10.3389/fnagi.2023.1237469
16. Parnetti, L., Reboldi, G., Gallai, V. (2000) Cerebrospinal fluid pyruvate levels in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurology*, **54**(3), 735–735. DOI: 10.1212/WNL.54.3.735
17. Hileman, C.O., Kalayjian, R.C., Azzam, S., Schlatter, D., Wu, K., Tassiopoulos, K., Bedimo, R., Ellis, R.J., Erlandson, K.M., Kallianpur, A., Koletar, S.L., Landay, A.L., Palella, F.J., Taiwo, B., Pallaki, M., Hoppel, C.L. (2021) Plasma citrate and succinate are associated with neurocognitive impairment in older people with HIV. *Clinical Infectious Diseases*, **73**(3), e765–e772. DOI: 10.1093/cid/ciab107
18. Andersen, J.V., Skotte, N.H., Christensen, S.K., Polli, F.S., Shabani, M., Markussen, K.H., Haukedal, H., Westi, E.W., Diaz-delCastillo, M., Sun, R.C., Kohlmeier, K.A., Schousboe, A., Gentry, M.S., Tanila, H., Freude, K.K., Aldana, B.I., Mann, M., Waagepetersen, H.S. (2021) Hippocampal disruptions of synaptic and astrocyte metabolism are primary events of early amyloid pathology in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Cell Death & Disease*, **12**(11), 954. DOI: 10.1038/s41419-021-04237-y
19. Madrer, N., Perera, N.D., Uccelli, N.A., Abbondanza, A., Andersen, J.V., Carsana, E.V., Demmings, M.D., Fernandez, R.F., De Fragas, M.G., Gbadamosi, I., Kulshrestha, D., Lima-Filho, R.A.S., Marian, O.C., Markussen, K.H., McGovern, A.J., Neal, E.S., Sarkar, S., ... Fernández-Moncada, I. (2025) Neural Metabolic Networks: Key Elements of Healthy Brain Function. *Journal of Neurochemistry*, **169**(6), e70084. DOI: 10.1111/jnc.70084
20. Steinman, M.Q., Gao, V., Alberini, C.M. (2016) The role of lactate-mediated metabolic coupling between astrocytes and neurons in long-term memory formation. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, **10**. DOI: 10.3389/fnint.2016.00010
21. Averchuk, A.S., Kukla, M.V., Rozanova, N.A., Stavrovskaya, A.V., Salmina, A.B. (2025) Comparative analysis of neurogenesis and cerebral angiogenesis in the hippocampal neurogenic niche in animals with two experimental models of Alzheimer's disease. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*, **19**(2), 41–51. DOI: 10.17816/ACEN.1227
22. Mohammadi, M., Tavassoli, Z., Anvari, S., Javan, M., Fathollahi, Y. (2024) Avoidance and escape conditioning adjust adult neurogenesis to conserve a fit hippocampus in adult male rodents. *Journal of Neuroscience Research*, **102**(1), e25291. DOI: 10.1002/jnr.25291
23. Anderson, J.C., Mattar, S.G., Greenway, F.L., Lindquist, R.J. (2021) Measuring ketone bodies for the monitoring of pathologic and therapeutic ketosis. *Obesity Science & Practice*, **7**(5), 646–656. DOI: 10.1002/osp4.516
24. Fan, L., Zhu, X., Borenstein, A.R., Huang, X., Shrubsole, M.J., Dugan, L.L., Dai, Q. (2023) Association of circulating caprylic acid with risk of mild cognitive impairment and Alzheimer's Disease in the Alzheimer's disease neuroimaging initiative (ADNI) Cohort. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, **10**(3), 513–522. DOI: 10.14283/jpad.2023.37
25. Andersen, J.V., Schousboe, A. (2023) Glial glutamine homeostasis in health and disease. *Neurochemical Research*, **48**(4), 1100–1128. DOI: 10.1007/s11064-022-03771-1
26. González-Bosch, C., Boorman, E., Zunszain, P.A., Mann, G.E. (2021) Short-chain fatty acids as modulators of redox signaling in health and disease. *Redox Biology*, **47**, 102165. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102165
27. Shcherbakova, K., Schwarz, A., Apryatin, S., Karpenko, M., Trofimov, A. (2022) Supplementation of regular diet with medium-chain triglycerides for procognitive effects: a narrative review. *Frontiers in Nutrition*, **9**, 934497. DOI: 10.3389/fnut.2022.934497
28. Yin, F. (2023) Lipid metabolism and Alzheimer's disease: clinical evidence, mechanistic link and therapeutic promise. *The FEBS Journal*, **290**(6), 1420–1453. DOI: 10.1111/febs.16344
29. Jang, S., Xuan, Z., Lagoy, R.C., Jawerth, L.M., Gonzalez, I.J., Singh, M., Prasad, S., Kim, H.S., Patel, A., Albrecht, D.R., Hyman, A.A., Colón-Ramos, D.A. (2021) Phosphofructokinase relocalizes into subcellular compartments with liquid-like properties in vivo. *Biophysical Journal*, **120**(7), 1170–1186. DOI: 10.1016/j.bpj.2020.08.002
30. Li, J., Zhang, N., Ren, W., Li, L., Sun, Y., Hou, Y., Song, S., Pan, L., Sun, Y., Zhang, K., Li, D., Guo, R., Lv, C., Han, F., Yu, Y. (2025) Effect of chronic intermittent hypoxia on hippocampal lipid metabolism in mice: A targeted lipidomics study. *Brain Research Bulletin*, **224**, 111319. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2025.111319
31. Liu, L., MacKenzie, K.R., Puthuri, N., Maletić-Savatić, M., Bellen, H.J. (2017) The glia-neuron lactate shuttle and elevated ROS Promote lipid synthesis in neurons and lipid droplet accumulation in glia via APOE/D. *Cell Metabolism*, **26**(5), 719–737.e6. DOI: 10.1016/j.cmet.2017.08.024
32. De Bartolomeis, A., Manchia, M., Marmo, F., Vellucci, L., Iasevoli, F., Barone, A. (2020) Glycine signaling in the framework of dopamine-glutamate interaction and postsynaptic density. implications for treatment-resistant schizophrenia. *Frontiers in Psychiatry*, **11**, 369. DOI: 10.3389/fpsyt.2020.00369
33. Seillier, C., Lesept, F., Toutirais, O., Potzeha, F., Blanc, M., Vivien, D. (2022) Targeting NMDA receptors at the neurovascular unit: past and future treatments for central nervous system diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(18), 10336. DOI: 10.3390/ijms231810336

Поступила: 22.09.2025
После доработки: 20.10.2025
Принята к публикации: 30.10.2025

METABOLIC PROFILING OF 5XFAD MICE HIPPOCAMPAL INTERSTITIAL FLUID AFTER COGNITIVE STIMULATION: A PILOT STUDY

Yu.K. Komleva^{1*}, A.S. Averchuk¹, D.V. Chistyakov^{2,3}, V.G. Vasil'ev³, V.A. Ivlev³, V.I. Zhdankina¹, M.V. Kukla¹, A.N. Lukyanchuk^{1,4}, I. V. Potapenko¹, A.B. Salmina¹

¹Russian Center of Neurology and Neurosciences,
80 Volokolamskoye Highway, 125367, Moscow, Russia; *e-mail: yuliakomleva@mail.ru

²Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskie Gory, 119234, Moscow, Russia

³The Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya str., 117198, Moscow, Russia

⁴V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, 1 Partizana Zheleznaka str., 660022, Krasnoyarsk, Russia

Alzheimer's disease (AD) is increasingly viewed as a condition associated with disruptions in brain energy metabolism, contributing to synaptic and cognitive impairments. While metabolic disturbances in AD are well characterized under resting conditions, much less is known about the hippocampal response to cognitive stimulation that requires high metabolic flexibility. In this pilot study, using *in vivo* microdialysis and high-resolution NMR spectroscopy, we analyzed the metabolic profile of interstitial fluid in the hippocampus of 5xFAD transgenic mice and control C57BL/6 animals on days 7 and 28 following cognitive training in a conditioned passive avoidance paradigm. Among the metabolites examined, significant differences were found for acetone: in 5xFAD animals on day 28, its concentration was markedly lower compared to controls, indicating a limited ability to maintain ketone metabolism in the delayed post-training period. Other metabolites (acetate, lactate, caprate, isobutyrate, and glycine) did not show significant differences between groups; however, the observed changes may indicate shifts in the utilization of alternative energy substrates. These data suggest reduced hippocampal metabolic plasticity in transgenic animals, particularly in the late phase following cognitive stimulation, which could potentially limit long-term cognitive adaptation. Despite the limitations of this pilot study, the results highlight the potential of an approach combining metabolic profiling *in vivo* for the early detection of metabolic disturbances and the search for potential biomarkers of neurodegenerative processes in AD.

Key words: Alzheimer's disease; hippocampus; microdialysis; NMR spectroscopy; metabolism; ketone bodies

FUNDING

This study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (Project No. 22-15-00126-II <https://rscf.ru/en/project/22-15-00126/>).

Received: 22.09.2025, revised: 20.10.2025, accepted: 30.10.2025