

АНТИАМІЛОЇДОГЕННИЙ, АНТИЗАПАЛЬНИЙ І АНТИОКСИДАНТНИЙ ЕФЕКТИ ЛІПОСОМНОЇ ФОРМИ КУРКУМІНУ І МІКРОРНК-101 НА МОДЕЛІ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА У ЩУРІВ

В.В. СОКОЛІК¹, О.Г. БЕРЧЕНКО¹, Н.О. ЛЕВІЧЕВА¹, Ю.Г. КОТ², К.В. КОТ²,
О.О. ТІГУНОВА³, Я.Б. БЛЮМ³, С.М. ШУЛЬГА^{3*}

¹ ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології імені П. В. Волошина НАМН України», Харків

² Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків

³ ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Київ

E-mail: shulga5@i.ua

Автор для кореспонденції – Шутьга С.М., e-mail: shulga5@i.ua

Хвороба Альцгеймера (АД) є невиліковним прогресуючим нейродегенеративним захворюванням, якому властиві деградація нейрональної мережі, деменція, нейрозапалення, депресія і амілоїдоз. Метою дослідження було з'ясування ефективної тривалості назальної застосування спрею ліпосомальної форми куркуміну (Cur) і мікроРНК-101 (miR-101) на експериментальній моделі хвороби Альцгеймера у щурів. В гомогенатах неокортексту і гіпокампу головного мозку щурів вимірювали концентрацію ендogenous β-амілоїдного пептиду 40 (Rat Aβ 1–40), ендотеліальної NO синтази (eNOS) та цитокінів: інтерлейкіну-1β (IL-1β), фактору некрозу пухлин α (TNFα) і інтерлейкіну-6 (IL-6). Встановили, що у гіпокампі головного мозку тварин з АД без лікування концентрація Rat Aβ 1–40 була збільшена на 10–20 добу розвитку захворювання, в неокортексі – лише на 30 добу. Назальна терапія з використанням спрею ліпосомальної форми суміші Cur + miR-101 виявила антиамілоїдогенний ефект починаючи з 5 доби лікування в обох відділах головного мозку щурів. Антизапальний ефект назальної терапії з використанням спрею ліпосомальної форми Cur + miR-101 був зафіксований з 15 доби лікування для IL-1β, TNFα і IL-6 завдяки властивості куркуміну пригнічувати транскрипцію їх генів. Антиоксидантну дію спрею ліпосомальної форми Cur + miR-101 спостерігали на всіх проміжках часу лікування в неокортексі і гіпокампі щурів з моделлю АД і збільшенням вмісту eNOS на 10, 20 і 30 добу захворювання в гіпокампі та 20 і 30 добу – в неокортексі головного мозку щурів без лікування. Показано антиамілоїдогенну, протизапальну та антиоксидантну дію назальної терапії спрею ліпосомальної форми куркуміну і мікроРНК-101 у гіпокампі та неокортексі головного мозку у випадку АД. Встановлено, що ефективна тривалість лікування має бути не менше 15 діб.

Ключові слова: куркумін, miR-101, β-амілоїдний пептид, цитокіни, ендотеліальна NO синтаза, ліпосоми, хвороба Альцгеймера.

Вступ. Хвороба Альцгеймера (АД) є основною причиною деменції серед людей похилого віку. Майже 10 % таких людей мають діагноз АД і вікова поширеність цього захворювання подвоюється кожні п'ять років після 65 річного віку. АД характеризується когнітивними порушеннями та втратою пам'яті, виникає соціально-економічне навантаження на суспільство і значна проблема для громадського здоров'я в світі (Lee et al., 2021). Механізми патогенезу АД включають амілоїдоз з утворенням токсичних амілоїдних агрегатів, нейрозапалення, оксидативний стрес, гіперфосфорування Тау-протеїну з подальшою руйнацією мікротрубочок нейрональних аксонів і утворенням нейрофібрилярних клубків (NFT). АД є найбільш поширеною нейродегенеративною патологією, але саме її багатofакторність перешкоджає створенню ефективних методів лікування. Патогенез АД потребує більш детального дослідження, а терапевтичні стратегії інноваційного підходу.

МікроРНК – це консервативні малі некодуючі РНК, які регулюють експресію генів після транскрипції. Особливості їх функціонування було описано в багатьох дослідженнях нейродегенеративних захворювань, зокрема АД (Liu et al., 2022, Tan et al., 2013). Однією з найбільш відомих функцій мікроРНК (Kim et al., 2024, Leitao and Enguita, 2022) є пригнічення експресії її цільових генів шляхом деградації або інгібування трансляції відповід-

них матричних РНК (мРНК). У ряді робіт (Patel et al., 2008, Vilardo et al., 2010, Zhang et al., 2024) показано, що мікроРНК, зокрема, miR-20a, miR-106a, miR-106b, miR-17-5p, miR-16, miR-101, miR-147, miR-153 і miR-520c безпосередньо регулюють експресію $A\beta PP$, націлюючись на 3'-UTR мРНК $A\beta PP$. Серед цих мікроРНК, кількість miR-106b і miR-101 знижується в мозку пацієнтів з АД, що призводить до збільшення експресії $A\beta PP$ і виробництва $A\beta$ (Xianjuan et al., 2020). Примусове відтворення рівня цих мікроРНК за допомогою ліпосомального препарату екзогенних аналогів може запобігти надлишковому синтезу $A\beta PP$ та його процесінгу за амілоїдогенним сценарієм з утворенням агрегаційно агресивних β -амілоїдних пептидів та їх токсичних олігомерів (Shaik et al., 2018). На клітинній моделі хвороби Альцгеймера було з'ясовано прямий антиамілоїдогенний вплив ліпосомального препарату miR-101 на рівні пригнічення трансляції мРНК $A\beta PP$ та його опосередкований антизапальний вплив на активність окремих прозапальних цитокінів (Sokolik et al., 2021). В терапії з використанням РНК-інтерференції (iRNA) є одне суттєве застереження: «забагато мішеней для ефекту мікроРНК (TMTME)», тобто одна мікроРНК зазвичай націлена на десятки і навіть сотні генів і передбачити усі наслідки лікування екзогенними мікроРНК наразі не можливо (Zhang et al., 2021).

Результати роботи (Kakkar et al., 2019) обґрунтовують терапевтичний вплив куркуміну в патофізіології АД. У дослідженнях *in vitro* повідомлялося, що куркумін пригнічує агрегацію β -амілоїдного ($A\beta$) протеїну (Cuccioloni et al., 2022, Yang et al., 2005, Utomo et al., 2021), викликані $A\beta$ токсичність і нейрозапалення (Banez et al., 2020, Begum et al., 2008, Hamaguchi et al., 2010, Qin et al., 2010) та активність β -секретази і ацетилхолінестерази (Ahmed and Gilani, 2009). У дослідженнях *in vivo* пероральне введення куркуміну призводило до інгібування відкладення $A\beta$, олігомеризації $A\beta$ і фосфорилування Тау в мозку тварин з моделлю АД та до зменшення поведінкових розладів (Far et al., 2024, Li et al., 2024). Ці результати показали, що куркумін може бути однією з перспективних сполук за розробки терапії АД.

Нейрозапалення в тканинах головного мозку за АД в основному опосередковується мікроглією та астроцитами. Це підтверджується підвищеними рівнями прозапальних цитокінів, зокрема TNF α і IL-6, у сироватці та нервовій тканині головного мозку пацієнтів з АД у порівнянні з контрольною групою (Fillit et al., 1991, Strauss et al., 1992). Серед фізіологічних і патологічних активаторів експресії $A\beta PP$ є прозапальний цитокін IL-1 β (Rogers et al., 1999, Vilardo et al., 2010). IL-1 β синтезується в центральній нервовій системі (ЦНС) у відповідь на пошкодження та впливає на функцію нейронів шляхом взаємодії з рецептором IL-1 типу I, який експресується на нейронах. IL-1 β надмірно експресується у випадку АД і бере участь в ініціації та прогресуванні патології АД і сприяє транскрипції і трансляції $A\beta PP$ у різних типах клітин (Vilardo et al., 2010).

Куркумін може зв'язуватися з Toll-подібними рецепторами (TLR) і знижувати регуляцію мітоген-активованих протеїнкіназ (МАРК), протеїна-активатора 1 (AP-1) і сигнальних шляхів NF- κ B, які відіграють важливу роль у синтезі цитокінових медіаторів запалення. Крім того, куркумін може блокувати вироблення TNF α та інших прозапальних цитокінів через низхідну регуляцію NF- κ B (Nunes et al., 2024). У попередніх дослідженнях на тваринних та клітинних моделях АД автори показали антицитокінову активність куркуміну, який здатен пригнічувати експресію генів окремих прозапальних цитокінів на рівні транскрипції (Sokolik et al., 2016). Специфічна експресія мікроРНК в імунних клітинах свідчить про її роль у регуляції проліферації, диференціації та функції цих клітин. Вроджений імунітет є першою лінією захисту проти бактерій, вірусів та інших патогенів, а мікроРНК відіграє важливу роль у його регулюванні. Недавні дослідження показали, що мікроРНК-155, мікроРНК-146 і мікроРНК-223 беруть участь у регуляції гострих запальних реакцій, індукованих патогенами через TLR (Liang and Wang, 2021).

Окислювальний стрес (ОС) це дисбаланс між виробництвом активних форм кисню (АФК) і спроможністю їх інгібувати. ОС вважається одним із основних механізмів розвитку АД та пов'язаних з ним нейродегенеративних розладів. Окислювальне пошкоджен-

ня тісно пов'язано з іншими патологічними ключовими явищами нейродегенерації, такими як мітохондріальна дисфункція, запалення, порушення кальцієвого гомеостазу, дисрегуляція металів, неправильне згортання протеїнів та порушення аутофагії. Значне підвищення рівня маркерів ОС відбувається або одночасно з, або навіть перед початковою стадією амілоїдозу (Nu-nomura and Perry, 2020). Також було показано окислення РНК нейронів у вразливих популяціях нейронів за АД (Nunomura et al., 1999). Існування та біологічне значення окислених мікроРНК було продемонстровано на клітинних моделях (Wang et al., 2015). Три незалежні шляхи індукції апоптозу було ідентифіковано в процесі утворення окисленої мРНК, окисленої тРНК і окисленої мікроРНК. Окрім прямого окислення, рівні експресії ряду мікроРНК, вбудованих у відповідні регулятори або нижчі мішені ОС, змінювались за АД. Слід зазначити, що як пряме окислення РНК, так і окислювальна дисрегуляція експресії мікроРНК відбуваються на ранній стадії нейродегенерації та прискорює перебіг патологічних процесів. Використана у даному дослідженні miR-101 безпосередньо не бере участі у регулюванні оксидативного стресу, тому як маркер останнього автори обрали ендотеліальну NO-синтазу.

Метою дослідження було з'ясувати ефективну тривалість назального застосування спрею ліпосомальної форми куркуміну і мікроРНК-101 на моделі хвороби Альцгеймера у щурів.

Матеріали і методи. Дослідження проводили з 51 щуром-самцем 14 місячного віку. Щури перебували в умовах віварію у клітках для тварин в режимі день/ніч протягом 12 год за температури 20 ± 2 °C і відносній вологості 50–60 % з режимом вільного доступу до корму та води *ad libitum*.

Розчин β -амілоїдного пептиду 1–42 (A β 42) у бідистилаті агрегували 24 год за 37 °C. Великі грубі конгломерати Human A β 42 диспергували і стерилізували ультразвуком безпосередньо перед введенням. Використовували саме A β 42 людини тому, що у випадку використання A β 42 щурів не відбувається агрегація через відмінності у трьох амінокислотних залишках в складі пептиду (Ueno et al., 2014).

Використовували miR-101 (AM1911 MIRacle™ hsa-miR-101-3p miRNA, Accegen, USA) з нуклеотидною послідовністю 5'UACAGUACUGUGA UAAC UGAA3' та куркумін («Sigma-Aldrich», USA). Ліпосоми створювали за допомогою метода ліпідних плівок (Murakami et al., 2000, Kunwar et al., 2006) з лецитину соняшника НВФ «BIOLER» (Україна) у співвідношенні куркумін : лецитин як 1 : 20 з наступною сонікацією. Загальний об'єм розчину – 10 мл, тривалість сонікації – 10 хв. Гідратацію ліпідного шару проводили розчином miR-101 у стерильній воді для ін'єкцій. Гетерогенну суспензію ліпосом на льодяній бані диспергували ультразвуком за частоти 22 kHz з потужністю випромінювання 50 % з наступним центрифугуванням за 4 тис. об/хв (~2000g) впродовж 5 хв. Супернатант містив ліпосоми розміром 60–90 нм.

Модель хвороби Альцгеймера у щурів-самців (n = 41) відтворювали шляхом інтрагіпокампального введення агрегатів β -амілоїдного пептиду Human 42 (Abcam, UK). Об'єм введеної суспензії A β 42 становив 10 мкл на тварину, швидкість введення через голку хроматографічного шприца – 0,03 мкл/с, тривалість введення – 5 хв. Доза β -амілоїдного пептиду Human 42 становила 15 нМ на тварину. Стереотаксичні координати ділянки лівого гіпокампу визначали за картою головного мозку (Sokolik et al., 2016), які відповідали відстані від точки перетину сагітального шва з брегмою (нульова точка): дистально – 2 мм, латерально – 2 мм і в глибину – 3,5 мм. Введення амілоїдогенного і токсичного β -амілоїдного пептиду Human 42 у вигляді суспензії його агрегатів проводили монолатерально лише у ділянку лівого гіпокампу для зменшення неспецифічних наслідків травмуючої дії хірургічного втручання. Стереотаксичні операції у тварин проводили під загальним наркозом, використовуючи тіопентал внутрішньочеревно у дозі 50 мг/кг маси тіла тварини.

Для визначення ефективної тривалості курсового застосування попередньо встановленої дієвої дози спрею ліпосомальної форми куркуміну і miR-101 (0,55 мМ Cur + 1,25 нМ miR-101) на експериментальній моделі АД (Sokolik and Berchenko, 2023), щурам дослід-

них груп інтраназально вводили по 40 мкл суспензії на тварину впродовж 5, 15 або 25 діб, відповідно. Терапію починали через 5 діб після стереотактичного втручання. Групами порівняння слугували тварини з моделлю АД без терапії в терміни 10, 20 і 30 діб, відповідно, після інтрагіпокампального введення агрегатів Аβ42. Контрольну групу склали 10 інтактних тварин, репрезентативні за віком і статтю. Характеристика експериментальних груп представлена у табл. 1. З кожної наважки нервової тканини неокортексу і гіпокампу робили гомогенати 9,6 та 4,8 %, відповідно. Далі після 1 год екстракції за 4 °С з подальшим центрифугуванням (8 тис. об/хв впродовж 15 хв) всіх проб одержували елюати супернатанту для імуно-ферментного аналізу (ІФА) біомаркерів.

В елюатах нервової тканини неокортексу і гіпокампу головного мозку щурів було визначено показники: запалення – цитокіни (IL-1β, TNFα і IL-6), оксидативного стресу – ендотеліальна NO синтаза (eNOS) та амілоїдогенного процесу – ендogenous β-амілоїдний пептид 40 (Rat_Aβ40) імуноферментним методом за використання відповідних наборів реагентів (Elabscience Biotechnology Inc., USA).

Отримані дані було нормовано на концентрацію загального протеїну в елюаті нервової тканини, яку встановлювали методом Лоурі. Статистичну обробку даних здійснювали набором статистичних програм з визначенням $M \pm m$, вірогідність розбіжностей оцінювали за t-критерієм Фішера-Стьюдента, переконавшись у нормальності розподілу показників. Критичним рівнем значущості (p) при перевірці статистичних гіпотез вважали 0,05.

Результати і обговорення. На рис. 1 наведена динаміка концентрації β-амілоїдного пептиду в гіпокампі (а) та неокортексі (б) головного мозку щурів з експериментальною моделлю АД в залежності від тривалості назальної терапії спреєм ліпосомальної форми куркуміну і miR-101. У гіпокампі головного мозку щурів під впливом агрегатів екзогенного Human_Aβ42 спостерігалось накопичення ендogenous Rat_Aβ40 у проміжку часу від 10 до 20 діб, яке нівелювалось ліпосомальним препаратом Cur+miR-101, з подальшою нормалізацією рівня цього показника. Натомість, в неокортексі головного мозку щурів з моделлю АД все відбувалось повільніше. Лише на 30 добу дослідження рівень Rat_Aβ40 перебільшував контрольний показник, а на 20 добу склав лише 10-добовий рівень. Лікувальний ефект ліпосомальної форми куркуміну і miR-101 реалізується у неокортексі вже з 5 доби терапії впродовж усього визначеного часу. Для моделі АД *in vitro* було показано, що збільшення вмісту ендogenous β-амілоїдних пептидів залежить від активації двох процесів: процесінгу за амілоїдогенним сценарієм вже існуючих молекул AβPP та індукції експресії його гену з подальшим збільшенням рівня mRNA^{AβPP}. В цій моделі куркумін мав суттєвий інгібуючий вплив на обидва процеси (Sokolik et al., 2016). Стосовно механізму впливу miR-101, дослідження на клітинних моделях амілоїдозу підтвердили, що мікроРНК не впливає на експресію AβPP, а пригнічує трансляцію його вже синтезованих матричних РНК, і у такий спосіб зменшує концентрацію ендogenous β-амілоїдних пептидів (Sokolik et al., 2021). Отже, тривалість терапії має становити не менше 15 діб, щоб усунути без-

Таблиця 1. Характеристика експериментальних тварин і ділянок нервової тканини

Група Показник	Контроль	Дослідні групи			Групи порівняння		
		АД-5 діб + L(Cur+miR-101)			АД-10 діб	АД-20 діб	АД-30 діб
		5 діб	15 діб	25 діб			
п, шт.	10	5	6	6	8	8	8
вік, міс.	14	14	14	14	14	14	14
стать	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
маса тіла, г	340 ± 20	498 ± 38	358 ± 25	367 ± 17	400 ± 43	370 ± 25	361 ± 39
маса неокортексу, мг	112 ± 2	105 ± 5	106 ± 4	109 ± 6	115 ± 1	114 ± 1	107 ± 2
маса гіпокампу, мг	77 ± 8	80 ± 15	91 ± 27	72 ± 11	86 ± 12	59 ± 16	59 ± 7

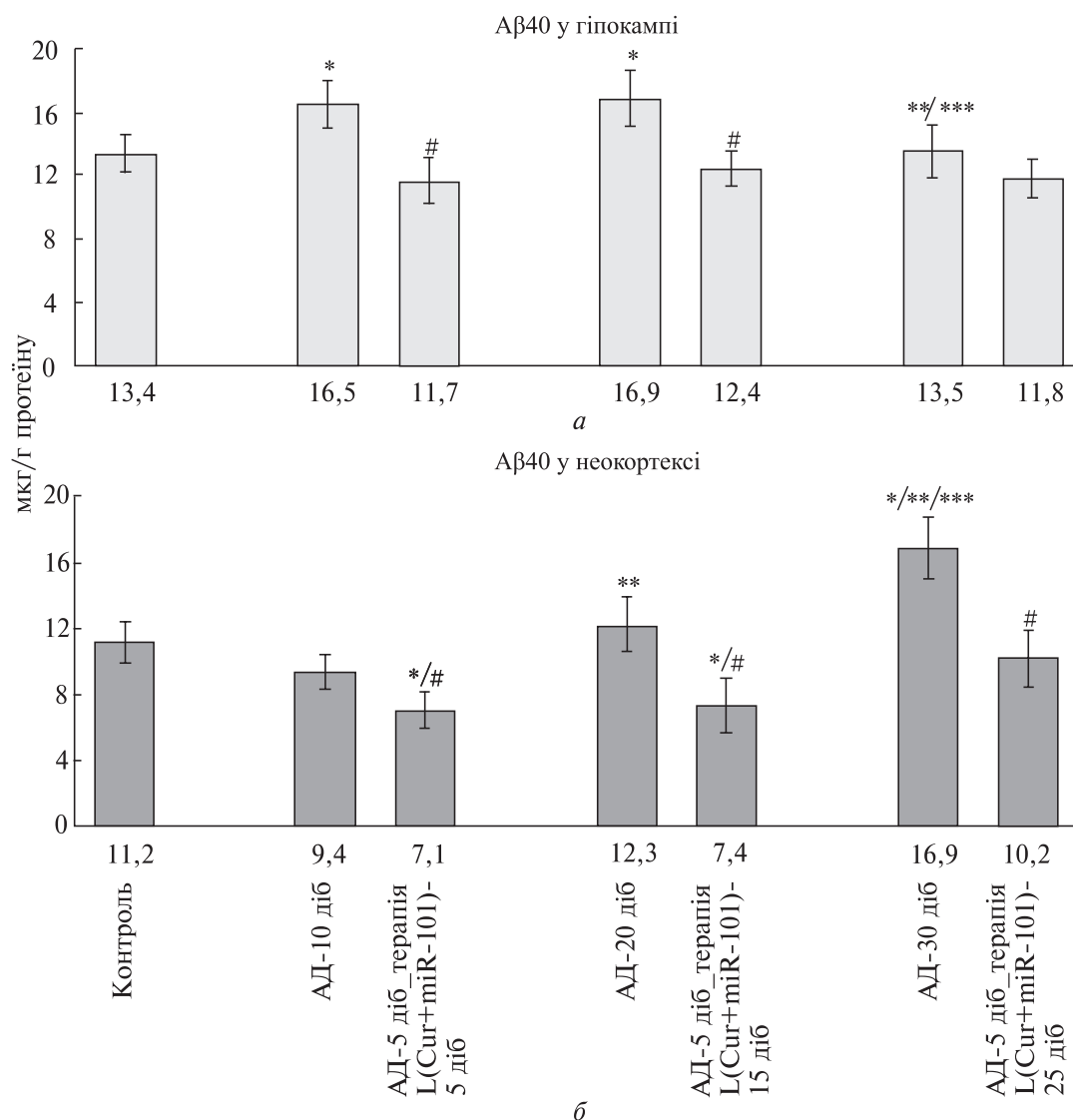


Рис. 1. Динаміка концентрації β-амілоїдного пептиду в гіпокампі (а) та неокортексі (б) головного мозку щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера в залежності від тривалості терапії ліпосомами з miR-101 і куркуміном; * – $p < 0,05$ вірогідно порівняно до контролю, ** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-10, *** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-20, # – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з відповідною групою АД без терапії

посереднє вогнище амілоїдогенезу в гіпокампі та стримати розповсюдження цього процесу до суміжних структур головного мозку (неокортекс), які теж залучено до патогенезу амілоїдоза.

Аналіз динаміки концентрації прозапальних цитокінів першої хвилі імунної відповіді (IL-1β і TNFα) свідчить про їх накопичення у гіпокампі головного мозку тварин на 20 добу після створення моделі АД (рис. 2, а і 3, а). Це накопичення успішно пригнічувала саме терапія ліпосомальною формою куркуміну з

miR-101 впродовж 15 діб. Рівень TNFα у неокортексі збільшувався на 10–20 добу АД; назальна терапія ліпосомальною формою куркуміну з miR-101 цьому запобігала (рис. 3, б). Для IL-1β у неокортексі головного мозку тварин змін виявлено не було (рис. 2, б).

Рівень інтерлейкіну-6 (амбівалентний цитокін другої хвилі імунної відповіді) прогресивно збільшувався в інтервалі 10–20 доба в гіпокампі щурів з моделлю АД без лікування, та нормалізувався завдяки задіяній терапії в цей

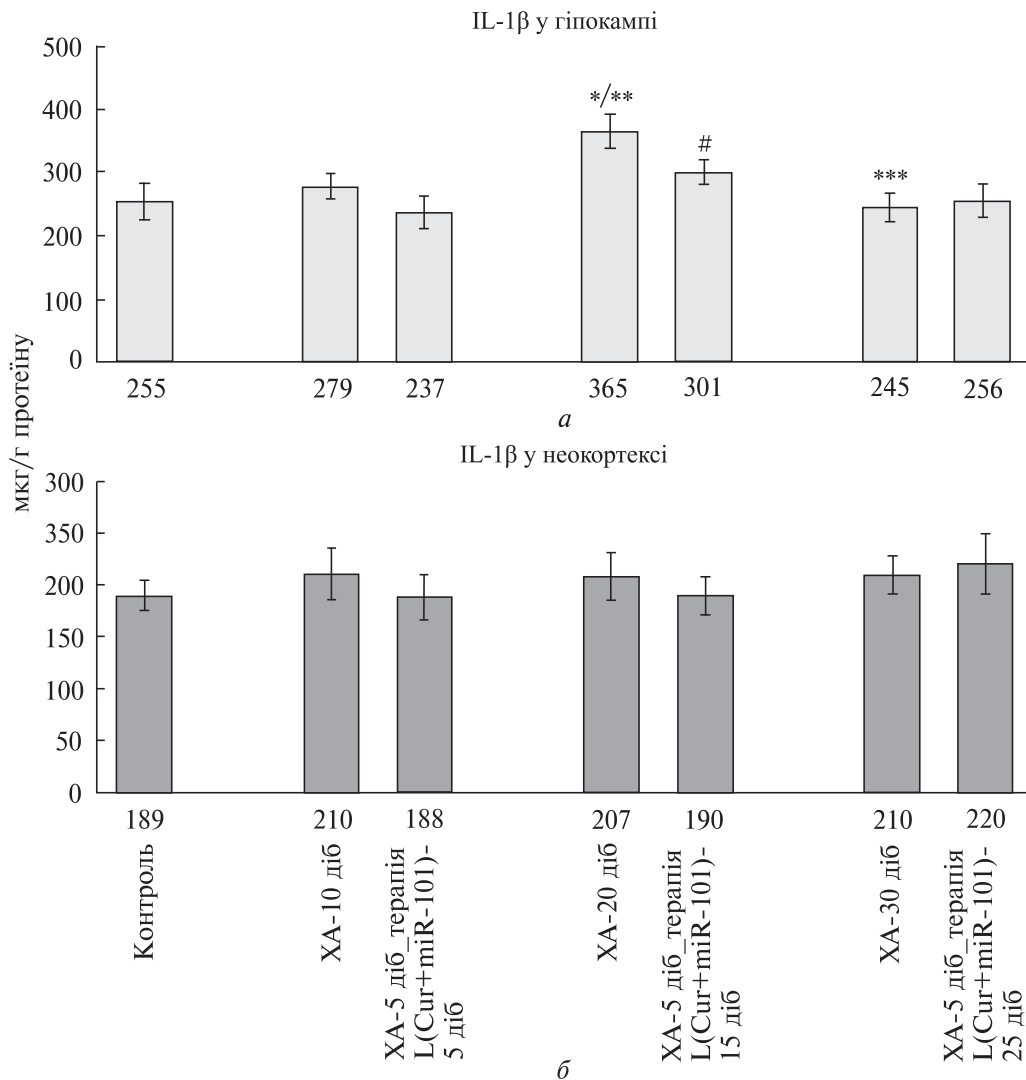


Рис. 2. Динаміка концентрації інтерлейкіну-1β в гіпокампі (а) та відсутність змін в неокортексі (б) головного мозку щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера в залежності від тривалості терапії ліпосомами з miR-101 і куркуміном; * – $p < 0,05$ вірогідно порівняно до контролю, ** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-10

же проміжок часу (рис. 4, а). Аналогічну динаміку спостерігали для IL-6 і в неокортексі головного мозку щурів з моделлю АД без лікування та після лікування, але трохи пізніше: на 20–30 добу після інтрагіпокампального введення суспензії Human_Aβ42 та 15–25 добу терапії, відповідно (рис. 4, б).

Таким чином, спираючись на специфічність динаміки нейрональних рівнів окремих цитокінів у гіпокампі і неокортексі головного мозку щурів, ефективна тривалість антизапального впливу назальної терапії ліпосомальним препаратом miR-101 і куркуміну експери-

ментальної хвороби Альцгеймера має становити від 15 діб, як і у випадку для ендогенного Aβ40.

На рис. 5 наведено розвиток окислювального стресу за динамікою рівня ендотеліальної NO-синтази в гіпокампі (а) і неокортексі (б) головного мозку щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера як без лікування, так і під впливом назальної терапії ліпосомами з miR-101 і куркуміном.

Слід відзначити, що в гіпокампі прооксидативний ефект (за динамікою eNOS) агрегатів екзогенного Aβ-42 та антиоксидантний ефект miR-101 і куркуміну в ліпосомах реєструється у

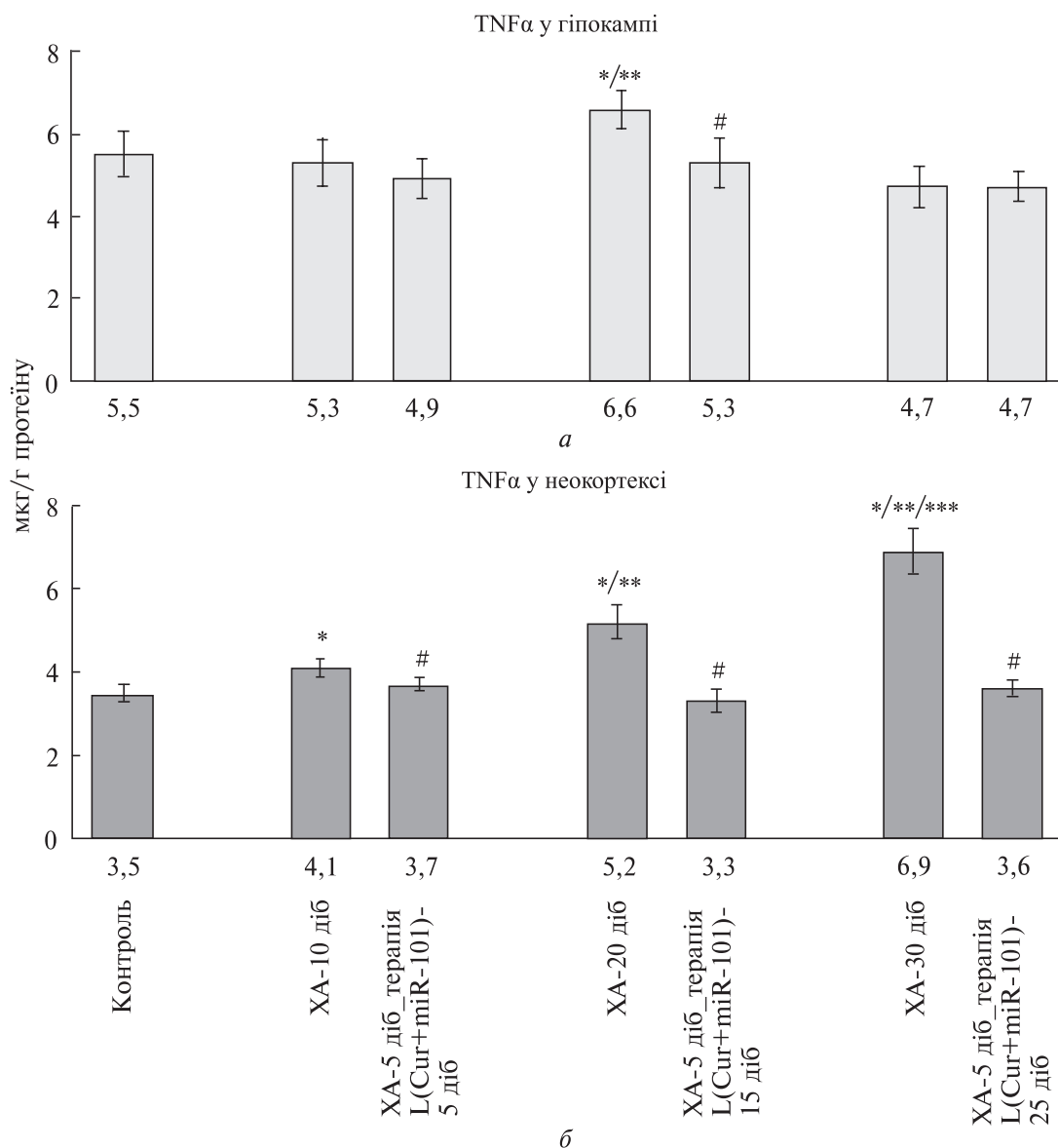


Рис. 3. Динаміка концентрації фактору некрозу пухлин α в гіпокампі (а) та неокортексі (б) головного мозку шурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера в залежності від тривалості терапії ліпосомами з miR-101 і куркуміном; * – $p < 0,05$ вірогідно порівняно до контролю, ** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-10, *** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-20, # – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з відповідною групою АД без терапії

кожному інтервалі дослідження: 10, 20, 30 доба патології і 5, 15, 25 доба лікування, відповідно (рис. 5, а). У неокортексі події починають розгортатися трохи згодом: в інтервалі 20–30 доба без лікування та 15–25 доба терапії, відповідно (рис. 5, б). Тому, підсумовуючи ці результати, можна зробити висновок, що саме 15-добова тривалість терапії є максимально ефективною для пригнічення окислювального стресу.

Не менш цікаво прослідкувати реактивні показники амілоїдогенезу, нейрозапалення і окислювального стресу в залежності від структури головного мозку (гіпокамп або неокортекс) у шурів з моделлю АД та її терапією ліпосомальною формою miR-101 з куркуміном. В гіпокампі вже з 10 доби моделі АД без лікування та 5 доби терапії змінювався рівень ендogenous β-амілоїдного пептида 40,

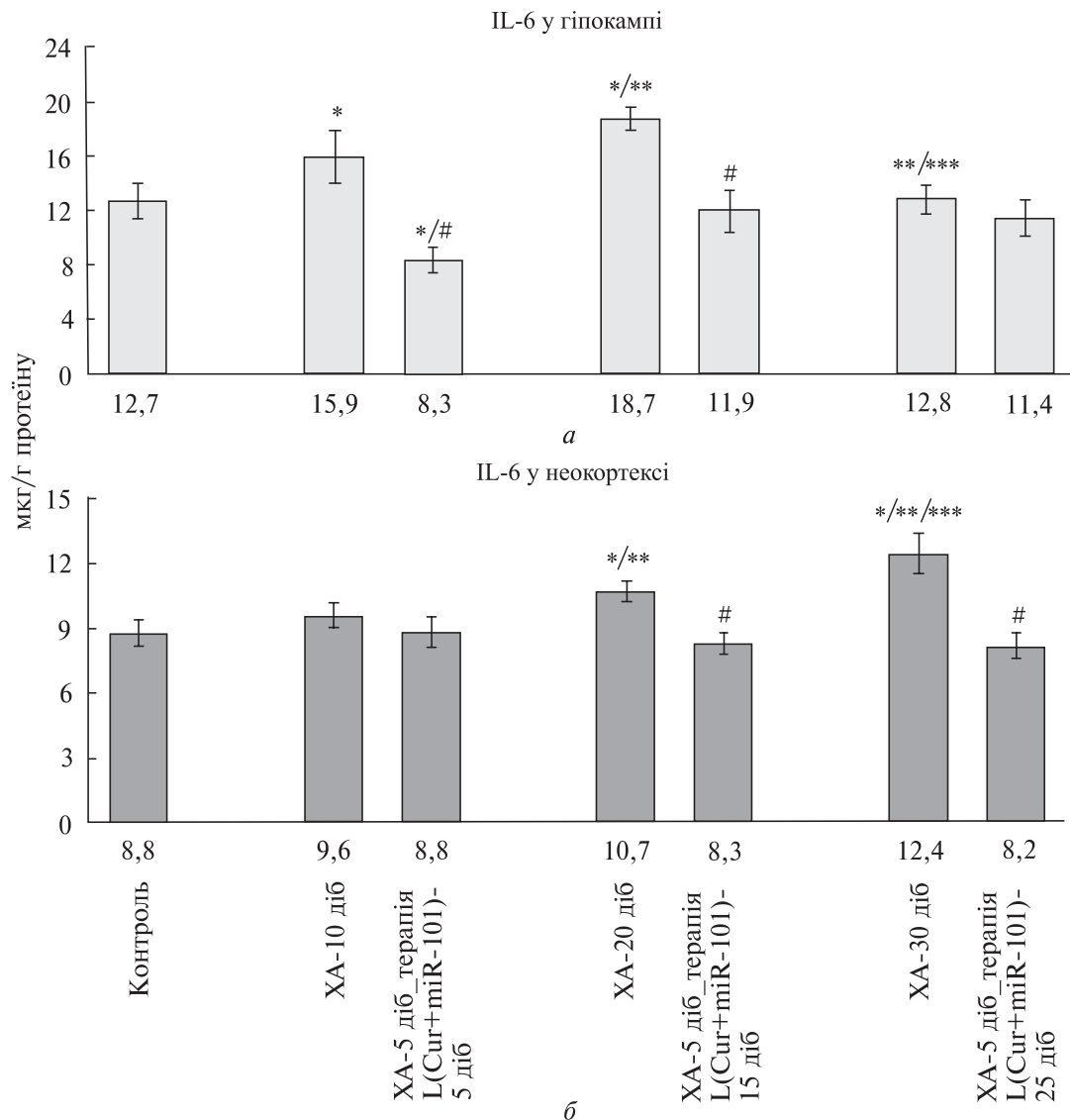


Рис. 4. Динаміка концентрації інтерлейкіну-6 в гіпокампі (а) та неокортексі (б) головного мозку щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера в залежності від тривалості терапії ліпосомами з miR-101 і куркуміном; * – $p < 0,05$ вірогідно порівняно до контролю, ** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-10, *** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-20, # – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з відповідною групою АД без терапії

інтерлейкіну-6 та ендотеліальної NO-синтази, тоді як в неокортексі зміни починалися лише на 20 і 15 добу, відповідно. Аналогічна специфіка відмічалася для фактору некрозу пухлин α в неокортексі головного мозку тварин. Крім цього, підвищення реакції окремих показників на відповідні чинники у неокортексу виявились більшими, ніж у гіпокампі. Так максимальне накопичення $A\beta$ -40 у неокортексі було 151 %, а в гіпокампі – 126 %; $TNF\alpha$ у неокор

тексі – 197 %, а в гіпокампі – 120 %; eNOS у неокортексі було 180 %, а в гіпокампі – 149 %. Але такі відмінності суттєво не позначилися на ефективності терапії.

Дані табл. 2 свідчать про швидші метаболічні порушення в гіпокампі (20 доба захворювання і відповідно 15 доба лікування) та повільні – в нео-кортексі (30 доба захворювання і відповідно 25 доба лікування). Це можна пояснити безпосереднім токсичним впливом

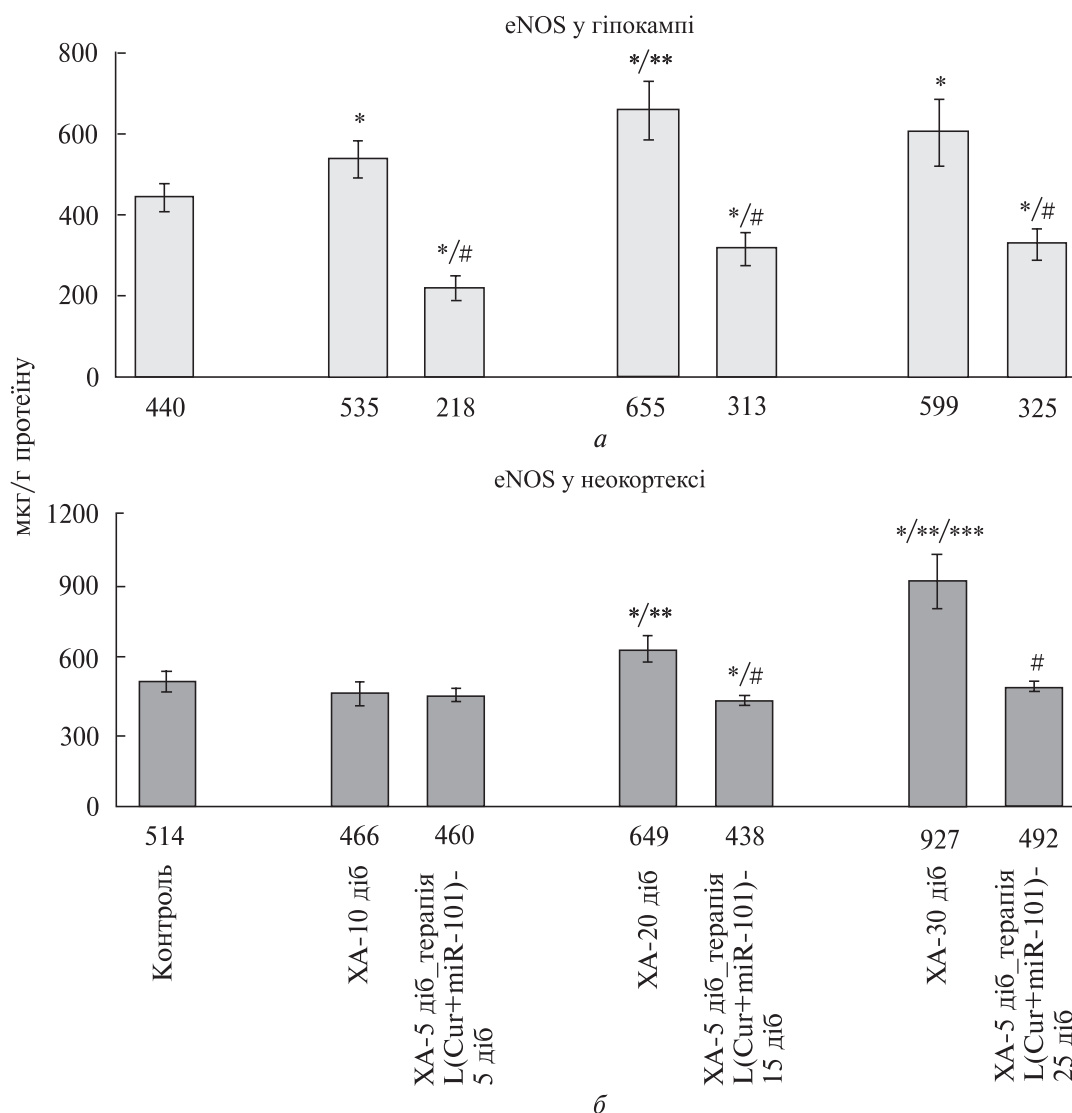


Рис. 5. Динаміка концентрації ендотеліальної NO-синтази в гіпокампі (а) та неокортексі (б) головного мозку щурів з експериментальною моделлю хвороби Альцгеймера в залежності від тривалості терапії ліпосомами з miR-101 і куркуміном; * – $p < 0,05$ вірогідно порівняно до контролю, ** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-10, *** – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з групою АД-20, # – $p < 0,05$ вірогідно порівняно з відповідною групою АД без терапії

агрегатів Human_A β 42 у гіпокампі, та опосередкованим його впливом у неокортексі за відтворення моделі АД у щурів і більшою швидкістю накопичення miR-101 і куркуміну в гіпокампі, в порівнянні з неокортексом, за назального застосування.

Узагальнюючи отримані дані можна зробити висновок, що у щурів з АД згідно динаміки показників амілоїдогенезу, нейрозапалення і окислювального стресу ефективною триваліс-

тю назальної терапії ліпосомальною формою miR-101 з куркуміном становить 15 діб.

Вплив мікроРНК і куркуміноїдів як терапевтичних засобів за АД є суттєвим, але ще не повністю реалізованим. Розробка терапії на основі ліпосомальної форми мікроРНК і куркуміну передбачає подолання труднощів, пов'язаних з доставкою (ліпосоми), функціональною специфічністю та персоналізацією медичних підходів, які адаптують втручання на

Таблиця 2. Ефективна тривалість назальної терапії ліпосомами з куркуміном і miR-101 у тварин з моделлю хвороби Альцгеймера

Хвороба Альцгеймера/Тривалість терапії						
Показник	10 діб	5 діб	20 діб	15 діб	30 діб	25 діб
НЕОКОРТЕКС						
IL-1 β						
TNF α						
IL-6						
eNOS						
A β 40						
ГІПОКАМП						
IL-1 β						
TNF α						
IL-6						
eNOS						
A β 40						

Примітка. Темно-сірим кольором позначено наявність патометаболічних змін за умов розвитку захворювання; світло-сірий колір – пригнічення патологічного процесу завдяки лікуванню.

основі індивідуальних генетичних та молекулярних профілів пацієнтів з АД (Li et al., 2024, Martinez-Iglesias et al., 2023). Тому цю роботу автори розглядають як одну з багатьох сходинок у створенні ефективного лікарського засобу для лікування АД.

За результатами дослідження можна зробити висновок, що у гіпокампі головного мозку тварин з АД без лікування концентрація Rat_A β 1-40 була збільшена на 10-20 добу розвитку захворювання, а в неокортексі – лише на 30 добу. Назальна терапія з використанням спрею ліпосомальної форми суміші Cur + miR-101 виявила антиамілоїдогенний ефект починаючи з 5 доби лікування в обох відділах головного мозку щурів.

Антизапальний ефект назальної терапії з використанням спрею ліпосомальної форми Cur + miR-101 був зафіксований з 15 доби лікування для IL-1 β , TNF α і IL-6 завдяки властивості куркуміну пригнічувати транскрипцію їхніх генів. Антиоксидантну дію спрею ліпо-

сомальної форми Cur + miR-101 відмічено на всіх проміжках часу лікування в неокортексі і гіпокампі щурів з моделлю АД та збільшенням вмісту eNOS на 10, 20 і 30 добу захворювання в гіпокампі та 20 і 30 добу – в неокортексі головного мозку щурів без лікування.

Показано антиамілоїдогенну, протизапальну та антиоксидантну дію назальної терапії спрею ліпосомальної форми куркуміну і мікроРНК-101 у гіпокампі та неокортексі головного мозку у випадку АД. Встановлено, що ефективна тривалість лікування має бути не менше 15 діб.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить досліджень за участю людей. Дослідження на тваринах було проведено відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (1998), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006) та експериментальних протоколів

відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів з тваринами» (Київ, 2011), «Порядку проведення науковими установами дослідів та експериментів на тваринах» (№ 249 від 01.03.2012) та схвалені Комісією з питань біоетики ДУ «Інституту неврології, психіатрії та наркології імені П.В. Волошина НАМНУ» (протокол номер 9, від 19 вересня 2024).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутності конфліктів інтересів.

Фінансування. Дослідження виконане за грантової підтримки Національного фонду досліджень України в межах проекту № 2021.01/0282.

ANTIAMYLOIDOGENIC, ANTI-INFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF A LIPOSOMAL FORM OF CURCUMIN AND MIRNA-101 IN THE EXPERIMENTAL MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE IN RATS

V.V. Sokolik, O.H. Berchenko, N.O. Levicheva,
Yu.H. Kot, K.V. Kot, O.O. Tihunova,
Ya.B. Blume, S.M. Shulga

SI «The P.V. Voloshyn Institute of Neurology, Psychiatry, and Narcology of the NAMSU», Kharkiv
The V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv

SI «The Institute of Food Biotechnology and Genomics of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine», Kyiv
E-mail: shulga5@i.ua

Alzheimer's disease (AD) is an incurable progressive neurodegenerative disease, notable for degradation of the neuronal network, dementia, depression, and amyloidosis. The aim of the study was to determine effective duration of nasal application of a spray of liposomal form of curcumin (Cur) and microRNA-101 (miR-101) using the experimental model of Alzheimer's disease in rats. The homogenates of neocortex and hippocampus of the rat brain were used to measure the concentration of endogenous β -amyloid peptide 40 (Rat_A β 1–40), endothelial NO synthase (eNOS) and cytokines: interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor α (TNF α) and interleukin-6 (IL-6). It was determined that in the hippocampus of the brain of the rats with AD without treatment, the concentration of Rat_A β 1–40 was increased on day 10–20 of the disease development, and in the neocortex – only on day 30. Nasal therapy using the spray of the liposomal form of the Cur + miR-101 mixture demonstrated the antiamyloidogenic effect, starting on day 5 of the treatment in both regions of the rat brain. The anti-inflammatory effect of the nasal therapy using the spray of the liposomal form of

Cur + miR-101 was registered starting on day 15 of the treatment for IL-1 β , TNF α and IL-6 due to the ability of curcumin to inhibit the transcription of their genes. The antioxidant effect of the spray of the liposomal form of Cur + miR-101 was observed in all the treatment periods in neocortex and hippocampus of the rats with the AD model and the increase in the eNOS content of days 10, 20, and 30 of the disease in the hippocampus, and on days 20 and 30 – in the neocortex of the brain of the rats without treatment. The antiamyloidogenic, anti-inflammatory, and antioxidant effect of the nasal therapy using the spray of the liposomal form of curcumin and microRNA-101 in the hippocampus and neocortex of the brain with AD were demonstrated. It was determined that the effective treatment duration should be at least 15 days.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Ahmed, T., and Gilani, A.H., Inhibitory effect of curcuminoids on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia may explain medicinal use of turmeric in Alzheimer's disease, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2009, vol. 91, no. 4, pp. 554–559. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.09.010>
- Banez, M.J., Geluz, M.I., Chandra, A., Hamdan, T., Biswas, O.S., Bryan, N.S., and Von Schwarz, E.R., A systemic review on the antioxidant and anti-inflammatory effects of resveratrol, curcumin, and dietary nitric oxide supplementation on human cardiovascular health, *Nutr. Research.*, 2009, vol. 78, pp. 11–26. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.03.002>
- Begum, A.N., Jones, M.R., Lim, G.P., Morihara, T., Kim, P., Heath, D.D., Rock, C.L., Pruitt, M.A., Yang, F., Hudspeth, B., Hu, S., Faull, F.K., Teter, B., Cole, G.M., and Frautschy, S.A., Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer's disease, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2008, vol. 326, no. 1, pp. 196–208. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.137455>
- Cuccioloni, M., Cecarini, V., Bonfili, L., Pettinari, R., Tombesi, A., Pagliaricci, N., Petetta, L., Angeletti, M., and Eleuteri, A.M., Enhancing the Amyloid- β Anti-aggregation properties of Curcumin via Arene-Ruthenium (II) derivatization, *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 15. <https://doi.org/10.3390/ijms23158710>
- Far, B.F., Safaei, M., Pourmolaei, A., Adibamini, S., Shirdel, S., Shirdel, S., Emadi, R., and Kaushik, A.K., Exploring Curcumin-loaded lipid-based nanomedicine as efficient targeted therapy for Alzheimer's diseases, *ACS Appl. Bio. Mater.*, 2024, vol. 7, no. 6, pp. 3535–3555. <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c00112>
- Fillit, H., Ding, W.H., Buee, L., Kalman, J., Altstiel, L., Lawlor, B., and Wolf-Klei, G., Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease,

- Neurosci. Lett.*, 1991, vol. 129, pp. 318–320. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(91\)90490-k](https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90490-k)
- Hamaguchi, T., Ono, K., and Yamada, M., Review: Curcumin and Alzheimer's Disease, *CNS Neurosci. Ther.*, 2010, vol. 16, no. 5, pp. 285–297. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00147.x>
- Kakkar, V., Kumari, P., Adlakha, S., and Kaur, I. P., Curcumin and its nanoformulations as therapeutic for Alzheimer's disease, in *Nanobiotechnology in Neurodegenerative Diseases*, Springer, Cham, 2019, pp. 343–367. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30930-5_14
- Kim, J.M., Kim, W.R., Park, E.G., Lee, D.H., Lee, Y.J., Shin, H.J., Jeong, H.-s., Roh, H.-Y., and Kim, H.-S., Exploring the regulatory landscape of dementia: Insights from non-coding RNAs, *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, vol. 25, no. 11. <https://doi.org/10.3390/ijms25116190>
- Kunwar, A., Barik, A., Pandey, R., and Priyadarsini, K.I., Transport of liposomal and albumin loaded curcumin to living cells: an absorption and fluorescence spectroscopic study, *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, vol. 1760, no. 10, pp. 1513–1520. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.06.012>
- Lee, S.Y., Ryu, I.S., Ryu, J.-H., and Cho, H.-J., MiRNAs as therapeutic tools in Alzheimer's disease, *J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 23. <https://doi.org/10.3390/ijms222313012>
- Leitro, A.L., and Enguita, F.J., A Structural view of miRNA biogenesis and function, *Non-coding RNA*, 2022, vol. 8, no. 1. <https://doi.org/10.3390/ncrna8010010>
- Li, Y.B., Fu, Q., Guo, M., Du, Y., Chen, Y., and Cheng, Y., MicroRNAs: pioneering regulators in Alzheimer's disease pathogenesis, diagnosis, and therapy, *Transl. Psychiatry*, 2024, vol. 14. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-03075-8>
- Li, L., Wang, F., Jia, X., Yao, L., and Liu, Y., Research mechanism and progress of the natural compound Curcumin in treating Alzheimer's disease, *Mini-Reviews Med. Chem.*, 2024, vol. 24, no. 17, pp. 1590–1601. <https://doi.org/10.2174/0113895575263783231009051957>
- Liang, Y., and Wang, L., Inflammation-MicroRNAs in Alzheimer's disease: from disease pathogenesis to therapeutic potentials, *Front. Cell. Neurosci.*, 2021, vol. 15. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.785433>
- Liu, Y., Cheng, X., Li, H., Hui, S., Zhang, Z., Xiao, Y., and Peng, W., Non-coding RNAs as novel regulators of neuroinflammation in Alzheimer's disease, *Front. Immunol.*, 2022, vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.908076>
- Martínez-Iglesias, O., Naidoo, V., Carrera, I., Corzo, L., and Cacabelos, R., Natural bioactive products as epigenetic modulators for treating neurodegenerative disorder, *Pharmaceuticals*, 2023, vol. 16, no. 6. <https://doi.org/10.3390/ph16020216>
- Murakami, M., Fukatsu, K., Ohkawa, S., Kasahara, F., and Sugawara, T., ESR study on the antioxidant activity of TAK-218 in biological model membrane, *Chem. Pharm. Bull.*, 2000, vol. 48, no. 6, pp. 784–792. <https://doi.org/10.1248/cpb.48.784>
- Nunes, Y.C., Mendes, N.M., de Lima, E.P., Chehadi, A.C., Lamas, C.B., Haber, J.F.S., Bueno, M.D.S., Araujo, A.C., Catharin, V.C.S., Detregiachi, P.C.R., Laurindo, L.F., Tanaka, M., Barbalho, S.M., and Marin, M.J.S., Curcumin: a golden approach to healthy aging: A systematic review of the evidenc, *Nutrients*, 2024, vol. 11. <https://doi.org/10.20944/preprints202407.1076.v1>
- Nunomura, A., and Perry, G., RNA and Oxidative stress in Alzheimer's disease: Focus on microRNA, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2638130>
- Nunomura, A., Perry, G., Pappolla, M.A., Wade, R., Hirai, K., Chiba, S., and Smith, M.A., RNA oxidation is a prominent feature of vulnerable neurons in Alzheimer's disease, *J. Neuroscience*, 1999, vol. 19, no. 6, pp. 1959–1964. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-06-01959.1999>
- Patel, N., Hoang, D., Miller, N., Ansaloni, S., Huang, Q., Rogers, J.T., Lee, C.J., and Saunders, A.J., MicroRNAs can regulate human APP level., *Mol. Neurodegeneration*, 2008, vol. 3, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-3-10>
- Qin, X.-Y., Cheng, Y., and Yu, L.-C., Potential protection of curcumin against intracellular amyloid β -induced toxicity in cultured rat prefrontal cortical neuron, *Neurosci. Lett.*, 2010, vol. 480, no. 1, pp. 21–24. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.05.062>
- Rogers, J.T., Leiter, L.M., McPhee, J., Cahill, C.M., Zhan, S.S., Potter, H., and Nilsson, L.N., Translation of the Alzheimer amyloid precursor protein mRNA is up-regulated by interleukin-1 through 5'-untranslated region sequence, *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, no. 10, pp. 6421–6431. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.10.6421>
- Shaik, M.M., Tamargo, I.A., Abubakar, M.B., Kamal, M.A., Greig, N.H., and Gan, S.H., The role of microRNAs in Alzheimer's disease and their therapeutic potentials, *Genes*, 2018, vol. 9, no. 4. <https://doi.org/10.3390/genes9040174>
- Sokolik, V.V., Berchenko, O.G., Kolyada, A., and Shulga, S.M., Direct and indirect of liposomal form of miR-101 on cells in the experimental model of Alzheimer's disease, *Cytol. Genet.*, 2021, vol. 55, no. 6, pp. 499–509. <https://doi.org/10.3103/S0095452721060141>

- Sokolik, V.V., and Berchenko, O.G., The curcumin effect of the combined action of miR-101 and curcumin in a liposome on a model of Alzheimer's disease in mononuclear cell, *Front. Cell. Neurosci.*, 2023, vol. 10. <https://doi.org/fncell.2023.1169980>
- Sokolik, V.V., Karpov, P.A., Samofalova, D.A., and Shulga, S.M. Anti-cytokine activity of curcumin and its binding to a fragment of A β P., *Ad. Biochemistry*, 2016, vol. 4, no. 4, pp: 34–46. <https://doi.org/10.11648/j.ab.20160404.11>
- Sokolik, V.V., Koliada, O.K., and Shulga, S.M., Effect of β -amyloid peptide 42 on the dynamics of expression and formation of A β 40, IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-10 by peripheral blood mono-nuclear cells *in vitro* and its correction by curcumin. *Ukr. Biochem. J.*, 2016, vol. 88, no. 1, pp: 109–118. <https://doi.org/10.15407/ubj88.01.109>
- Strauss, S., Bauer, J., Ganter, U., Jonas, U., Berger, M., and Volk, B., Detection of interleukin-6 and alpha 2-macroglobulin immunoreactivity in cortex and hippocampus of Alzheimer's disease patients, *Lab. Invest.*, 1992, vol. 66, pp. 223–230
- Tan, L., Yu, J.T., Hu, N., and Tan, L., Non-coding RNAs in Alzheimer's diseases, *Mol. Neurobiol.*, 2013, vol. 47, pp. 382–393. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8359-5>
- Ueno, H., Yamaguchi, T., Fukunaga, S., Okada, Y., Yano, Y., Hoshino, M., and Matsuzaki, K., Comparison between the aggregation of Human and Rodent amyloid β -proteins in GM1 ganglioside clusters. *Biochemistry*, 2014, vol. 53, no. 48, pp. 7523–7530. <https://doi.org/10.1021/bi501239q>
- Utomo, R.Y., Asawa, Y., Okada, S., Ban, H.S., Yoshimori, A., Bajorath, J., and Nakamura, H., Development of curcumin-based amyloid β aggregation inhibitors for Alzheimer's disease using the SAR matrix approach. *Bioorg. Med. Chem.*, 2021, vol. 47. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116357>
- Vilardo, E., Barbato, C., Ciotti, M., Cogoni, C., and Ruberti, F., MicroRNA-101 regulates amyloid precursor protein expression in hippocampal neuron., *J. Biol. Chem.*, 2010, vol. 285, no. 24, pp. 18344–18351. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.112664>
- Xianjuan, K., Dandan, Ch., and Ning, Ch., The Regulation of microRNAs in Alzheimer's Disease, *Front. Neurology*, 2020, vol. 1. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00288>
- Wang, J.-X., Gao, J., Ding, S.-L., Wang, K., Jiao, J.-Q., Wang, Y., Sun, T., Zhou, L.-Y., Long, B., Zhang, X.-J., Li, Q., Liu, J.-P., Feng, C., Liu, J., Gong, Y., Zhou, Z., and Li, P.-F., Oxidative modification of miR-184 enables it to target Bcl-xL and Bcl-, *Mol. Cell*, 2015, vol. 59, no. 1, pp. 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.05.003>
- Yang, F., Lim, G.P., Begum, A.N., Ubeda, O.J., Simmons, M.R., Ambegaokar, S.S., Chen, P.P., Kayed, R., Glabe, C.G., Frautschy, S.A., and Cole, G.M., Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid *in vivo*, *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, pp. 589–5901. <https://doi.org/10.1074/jbc.M404751200>
- Zhang, S., Cheng, Z., Wang, Y., and Han, T., The Risks of miRNA Therapeutics: In a Drug Target Perspective, *Drug. Des. Devel. Ther.*, 2021, vol. 15, pp. 721–733. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S288859>
- Zhang, Y., Zhan, L., Jiang, X., and Tang, X., Comprehensive review for non-coding RNAs: From mechanisms to therapeutic application, *Biochem. Pharmacol.*, 2024, vol. 228. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116218>

Надійшла в редакцію 13.08.2025
Після доопрацювання 21.09.2025
Прийнята до друку 18.01.2026