

ской активности, но и к формированию токсичных агрегатов, усугубляющих клеточный стресс (Schmalhausen et al., 2024). Наши результаты подтверждают эту гипотезу, показывая, что коагрегаты ГАФД–Аβ1-42 вызывают гибель нейрональных клеток даже при относительно низких концентрациях и за относительно непродолжительный период действия (рис. 2), что подчеркивает их патогенетическую роль при нейродегенеративных заболеваниях.

Важным аспектом исследования является выявление активации шаперонной системы (Hsp70, Hsp90) в ответ на воздействие коагрегатов. Повышение экспрессии генов шаперонов и их субстрат-связывающей активности (рис. 3) свидетельствует о попытке клетки компенсировать стресс, вызванный появлением экзогенных агрегатов. Это согласуется с работами, демонстрирующими, что Hsp70 и Hsp90 играют ключевую роль в подавлении агрегации патологических белков и поддержании протеостаза (Hartl et al., 2011; Lindberg et al., 2015). Однако как показано в других исследованиях, длительная активация шаперонов может привести к их функциональному истощению, что усугубляет нейродегенерацию на поздних стадиях заболевания (Moreno et al., 2019). Таким образом, выявленная двукратная активация шаперонной активности (рис. 3б) может отражать ранний компенсаторный ответ, который при хроническом стрессе может стать недостаточным.

Ограничением работы является использование перепрограммированных мезенхимных клеток (MSC-Neu), которые, несмотря на экспрессию нейрональных маркеров, могут не полностью воспроизводить функциональные особенности зрелых нейронов. Кроме того, концентрации коагрегатов, применяемые в нашем эксперименте, могли превышать физиологически релевантные уровни. Тем не менее предложенная модель позволяет изучать ранние этапы взаимодействия экзогенных агрегатов с клеточными системами, что важно для понимания механизмов нейродегенерации.

Представленная работа наглядно демонстрирует возможные пути разработки терапевтических стратегий, направленных на ингибирование образования коагрегатов ГАФД–Аβ1-42. Например, блокада участков взаимодействия между ГАФД и Аβ1-42 с помощью малых молекул или антител может снизить их нейротоксичность (Lazarev et al., 2021). Одновременно усиление шаперонной системы, например с помощью индукторов

Hsp70, могло бы повысить устойчивость нейронов к протеотоксическому стрессу (Brodsky, Chiosis, 2006). Для валидации этих подходов необходимы дальнейшие исследования на животных моделях болезни Альцгеймера.

БЛАГОДАРНОСТИ

Клетки MSC-DP получены из Коллекции культур клеток позвоночных (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия), поддержанной Министерством образования и науки Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-683).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-74-10117.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Brodsky J. L., Chiosis G. 2006. Hsp70 molecular chaperones: emerging roles in human disease and identification of small molecule modulators. *Curr. Top. Med. Chem.* V. 6. P. 1215.
<https://doi.org/10.2174/156802606777811997>
- Dutyshcheva E. A., Kuznetcova L. S., Utepova I. A., Margulis B. A., Guzhova I. V., Lazarev V. F. 2025. Induction of chaperone synthesis in human neuronal cells blocks oxidative stress-induced aging. *Acta Naturae.* V. 17. P. 46.
<https://doi.org/10.32607/actanaturae.27531>
- Guo T., Zhang D., Zeng Y., Huang T. Y., Xu H., Zhao Y. 2020. Molecular and cellular mechanisms underlying the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegenerat.* V. 15. Art. ID: 40 (2020).
<https://doi.org/10.1186/S13024-020-00391-7>
- Hartl F. U., Bracher A., Hayer-Hartl M. 2011. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature.* V. 475. P. 324–332.
<https://doi.org/10.1038/nature10317>
- Herskovits A. Z., Locascio J. J., Peskind E. R., Li G., Hyman B. T. 2013. A Luminex assay detects amyloid β-oligomers in Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. *PLoS One.* Art. ID: e67898.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067898>
- Itakura M., Nakajima H., Kubo T., Semi Y., Kume S., Higashida S. et al. 2015. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase aggregates accelerate amyloid-β

- amyloidogenesis in Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* V. 290. P. 26072—26087.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M115.669291>
- Lazarev V. F., Tsolaki M., Mikhaylova E. R., Benken K. A., Shevtsov M. A., Nikotina A. Lechpammer M. D., Mitkevich V. A., Makarov A. A., Moskalev A. A., Kozin S. A., Margulis B. A., Guzhova I. V., Nudler E. 2021. Extracellular GAPDH promotes Alzheimer disease progression by enhancing amyloid- β aggregation and cytotoxicity. *Aging Dis.* V. 12. P. 1223—1237.
<https://doi.org/10.14336/AD.2020.1230>
- Lindberg I., Shorter J., Wiseman R. L., Chiti F., Dickey C. A., McLean P. J. 2015. Chaperones in neurodegeneration. *J. Neurosci.* V. 35. P. 13853—13859.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2600-15.2015>
- Mikeladze M. A., Dutysheva E. A., Kartsev V. G., Margulis B. A., Guzhova I. V., Lazarev V. F. 2021. Disruption of the complex between GAPDH and Hsp70 sensitizes C6 glioblastoma cells to hypoxic stress. *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. Art. ID: 1520.
<https://doi.org/10.3390/ijms22041520>
- Moreno D. F., Jenkins K., Morlot S., Charvin G., Csi-kasz-Nagy A., Aldea M. 2019. Proteostasis collapse, a hallmark of aging, hinders the chaperone-start network and arrests cells in G1. *Elife.* V. 8. Art. ID: e48240.
<https://doi.org/10.7554/eLife.48240>
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* V. 65. P. 55. PMID: 6606682.
- Murakami K., Ono K. 2022. Interactions of amyloid co-aggregates with biomolecules and its relevance to neurodegeneration. *FASEB J.* V. 36. Art. ID: e22235.
<https://doi.org/10.1096/fj.202200235R>
- Novoselov S. S., Novoselova T. V., Verbova M. V., Margulis B. A., Guzhova I. V. 2005. The balance between Hsp70 and its cochaperones Hdj1 and Bag1 determines its substrate-binding activity. *Tsitologiya.* V. 47. N. 3. P. 220—229. PMID: 16706166
- Schmalhausen E. V., Medvedeva M. V., Muronetz V. I. 2024. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Arch. Biochem. Biophys.* V. 758. Art. ID: 110065.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2024.110065>
- Scopes R. K., Stoter A. 1982. Purification of all glycolytic enzymes from one muscle extract. *Methods Enzymol.* V. 90. Pt E. P. 479—490. PMID: 7154963
- Sun X., Chen W. D., Wang Y. D. 2015. β -Amyloid: the key peptide in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front. Pharmacol.* Art. ID: 221.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00221>
- Wawrzynów A., Zylicz M. 1995. Divergent effects of ATP on the binding of the DnaK and DnaJ chaperones to each other, or to their various native and denatured protein substrates. *J. Biol. Chem.* V. 270. P. 19300—19306.
<https://doi.org/10.1074/jbc.270.33.19300>

THE ROLE OF THE GLYCERALDEHYDE-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE AND β -AMYLOID COMPLEX IN THE ACTIVATION OF THE CELLULAR CHAPERONE SYSTEM

E. A. Dutysheva, A. V. Yurakova, A. A. Sakharov, I. V. Guzhova, B. A. Margulis, V. F. Lazarev*

Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064, Russia

*e-mail: lazarev@incras.ru

Objective: Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease are associated with the accumulation of abnormal protein aggregates, particularly β -amyloid ($A\beta_{1-42}$). Their toxicity can be enhanced by interactions with other proteins, such as glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). The present paper studies the cytotoxic effect of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and β -amyloid ($A\beta_{1-42}$) co-aggregates on a culture of human mesenchymal cells reprogrammed into a neuronal phenotype. **Methods:** We used a model of neuronal cells (MSC-Neu) obtained by reprogramming human dental mesenchymal stromal cells that expressed markers of mature neurons. Co-aggregates were formed by incubating recombinant GAPDH and synthetic $A\beta_{1-42}$ in the presence of tissue transglutaminase, which provides covalent cross-linking of proteins. **Results:** The data obtained demonstrate that GAPDH— $A\beta_{1-42}$ co-aggregates have pronounced neurotoxicity, but are able to activate protective and compensatory mechanisms, including the chaperone apparatus. **Conclusion:** The results emphasize the need to develop therapeutic strategies aimed at blocking the GAPDH— $A\beta_{1-42}$ interaction and supporting cellular protective pathways to prevent neurodegeneration.

Keywords: Alzheimer's disease, protein aggregates, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, β -amyloid, chaperones