

ПРОТЕИНОПАТИЯ И АПОПТОЗ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ У КРЫС

*О. Н. Антошкин, В. Л. Загребин, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин,
Д. А. Бакулин, О. В. Федорова, А. В. Терентьев, А. С. Егорова*

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии,
кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей*

Описаны морфологические изменения нейронов коры больших полушарий головного мозга белых крыс при стрессорной нейродегенерации с амилоидогенезом в эксперименте. Выявлено, что нейродегенеративные нарушения нейронов соматосенсорной коры происходят с явлениями апоптоза нейронов и с нарушением белкового обмена в виде внутри и внеклеточного накопления амилоида.

Ключевые слова: нейроны, нейродегенерация, протеинопатия, амилоид, болезнь Альцгеймера.

AMYLOIDOGENESIS AND APOPTOSIS OF CEREBRAL NEURONS UNDER EXPERIMENTAL NEURODEGENERATION IN RATS

*O. N. Antoshkin, V. L. Zagrebin, E. V. Volotova, D. V. Kurkin,
D. A. Bakulin, O. V. Fedorova, A. V. Terentiev, A. S. Egorova*

Morphological changes of white rats cerebral cortex neurons under stress-induced experimental neurodegeneration with amyloidogenesis. It is revealed that neurodegenerative disorders of somatosensory cortex neurons occurs with apoptosis of neurons and with violation of protein metabolism in the form of intra- and the extracellular amyloid accumulation.

Key words: neurons, neurodegeneration, proteopathy, amyloid, Alzheimer's disease.

Нейродегенеративные заболевания, проявляющиеся прогрессирующим снижением интеллекта независимо от национальности или социально-экономического статуса, являются одними из самых распространенных причин старческого слабоумия. Более 10 % пожилых людей в возрасте старше 65 лет страдают болезнью Альцгеймера [3].

Гистологическими признаками нейродегенеративной протеинопатии является гибель нейронов и отложение внутри- и внеклеточного β -амилоида, образование внутриклеточных нейрофибриллярных сплетений в результате гиперфосфорилирования тау-белка [2, 3].

Первостепенное значение в механизме развития этой патологии большинство авторов придают увеличивающемуся окислительному стрессу, в том числе и опосредованному ионами металлов; взаимодействию амилоидных пептидов с рецепторами N-метил-D-аспартата (NMDA), что ведет к гибели нейронов; локальной агрегации N фактора системы комплемента (CFH) и, как следствие, устойчивой воспалительной реакции, сопровождающейся отложением агрегатов β -амилоида [6, 7, 8].

Выявление молекулярных основ протеинопатии и определения возможных терапевтических мишеней стимулировало разработку новых болезнь-модифицирующих препаратов. Одними из ключевых звеньев патогенеза протеинопатии является образование двух типов характерных гистопатологических включений: сенильных бляшек, в формировании которых основную роль играют амилоидные пептиды (A β), образующиеся при специфическом расщеплении белка-предшественника

амилоида (APP), и нейрофибриллярных клубков, формируемых патологическими формами белка тау. Оба эти компонента рассматриваются в настоящее время в качестве перспективных молекулярных мишеней, воздействие на которые позволит замедлить или остановить развитие нейродегенеративного процесса, поэтому создание препаратов для коррекции тау-патии и β -амилоидоза является актуальной задачей коррекции протеинопатии нейронов [1, 4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявление изменений нейронов коры больших полушарий головного мозга при стрессорной нейродегенерации с амилоидогенезом в эксперименте у старых крыс-самцов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 20 нелинейных белых крысах самцах в возрасте 24 месяцев. Стрессорное воздействие воспроизводилось методом ежедневного 30-минутного комбинированного физического и процессивного стрессорного воздействия на крыс в течение 7 дней. Были сформированы: 1) опытная группа (стресс), 2) группа интакт-контроль по 10 животных в каждой.

Интактная группа не подвергалась стрессорному воздействию и получала соответственно массу эквивалентный объем физиологического раствора [5].

После окончания эксперимента животные забивались, на микротоме изготавливались серийные фронтальные срезы в rostro-каудальном направлении, толщи-

ной 7 мкм, в обработку брались стекла лобной, теменных и височных долей головного мозга. Гистологические препараты окрашивались тионином по Ниссля для морфологического анализа ядерно-цитоплазматического индекса и характеристики перикариона.

Для детекции амилоидных включений, депарафинизированные срезы головного мозга окрашивали конго красным, с последующей дифференцировкой в щелочном этаноле, после чего проводили оценку удельной площади амилоидных отложений относительно общей площади среза [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфометрический анализ показал признаки нейродегенеративных изменений в нейронах соматосенсорной коры больших полушарий головного мозга стрессированных крыс опытной группы. Спонгиозность цитоархитектоники сопровождалась уменьшением плотности сосудов микроциркуляторного русла. Нейроны имели преимущественно крупное светлое, практически прозрачное ядро, занимающее более половины цитоплазмы. В ядре эксцентрично располагались сегрегированные ядрышки зачастую неправильной вытянутой формы.

При окраске тионином вещество Ниссля в цитоплазме практически не определялось. В височной и теменных полях коры больших полушарий отмечались нейроны с явными признаками апоптоза: пикнотическое ядро, крупные глыбки гетерохроматина, неразличимые с деформированным ядрышком, сморщенная цитоплазма (рис. 1А).

Гистологический анализ препаратов контрольной группы животных показал нормальное распределение нейронов, с характерным строением для данной возрастной группы, картины апоптоза встречались крайне редко. Ядро имело правильную форму, запол-

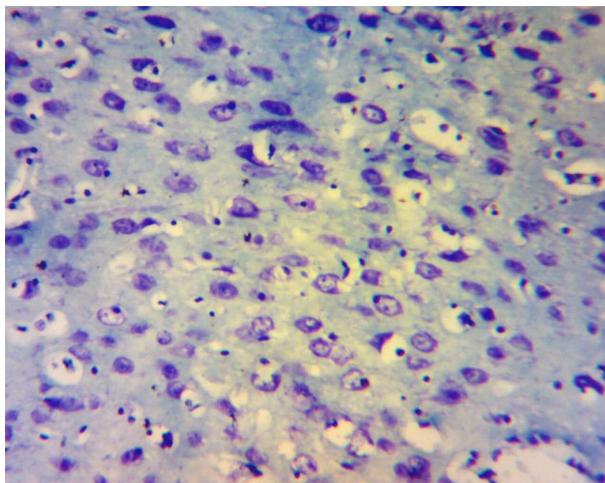
нено хроматином и имело центрально расположенное ядрышко с четкими ровными контурами. Хроматин в ядре был четко выражен и образовывал глыбки или полоски (гетерохроматин), а в перикарионе наблюдалось достаточное количество базофильного вещества (рис. 1Б).

При окраске конго красным на амилоид и докраской ядер гематоксилином выявлены белковые внутриклеточные включения и отмечены внеклеточные фибриллярные структуры, характеризующие качественные изменения, связанные с протеинопатией и выработкой патологических белков в опытной группе стрессированных животных (рис. 2А).

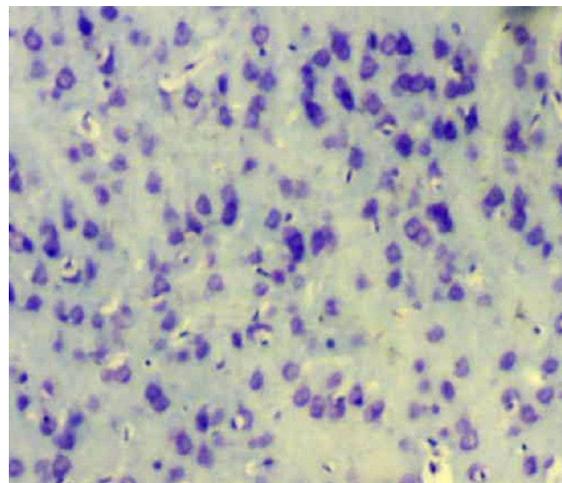
В интактной группе, учитывая возраст крыс, амилоид выявлен, но в малых количествах. Нейроны сохраняли свои качественные структурные характеристики, имели правильную отростчатую форму, структурированное ядрышко и гетерохроматин по окружности кариолеммы (рис. 2В).

Количественная оценка амилоидного компартмента показала статистически достоверное увеличение количества амилоидных отложений в нейронах коры головного мозга крыс опытной группы [удельная площадь — $(7,62 \pm 0,47) \%$] значительно больше, чем в контрольной группе интактных животных [удельная площадь — $(0,41 \pm 0,08) \%$], $p < 0,001$.

Важно отметить, что в подсчет принимались как внутриклеточные включения, так и внеклеточные отложения амилоида, в связи с чем необходимо учитывать, что согласно данным ряда исследователей, депонирование амилоида в составе инертных экстраклеточных структур (бляшек) может являться защитным процессом, обеспечивающим вывод патогенных форм потенциально амилоидогенных белков и токсичных растворимых промежуточных продуктов их агрегации из цитоплазмы нейронов и перевод в нерастворимые белковые комплексы патогистологических включений.

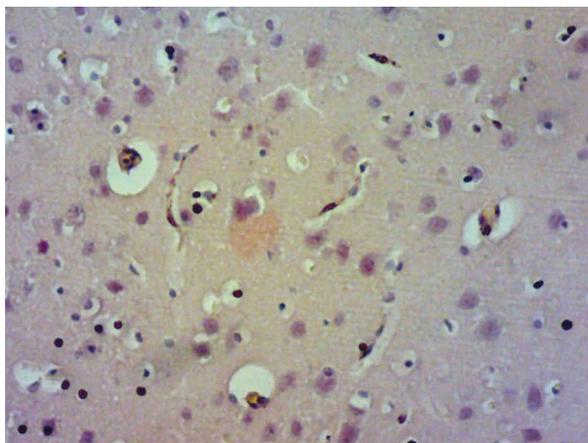


А

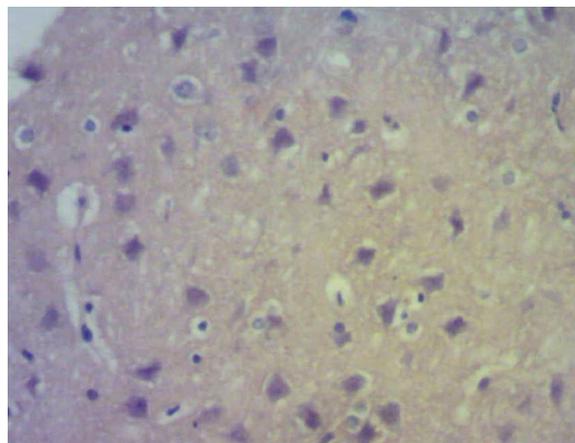


Б

Рис. 1. Нейроны коры больших полушарий белых крыс, окраска по Ниссля: А) опытная группа (стресс), Б) интакт-контроль, ув. x 160



А



Б

Рис. 2. Нейроны коры больших полушарий белых крыс, окраска на амилоид конго красным + докраска ядер гематоксилином: А) опытная группа (стресс), Б) интакт-контроль, ув. х 160

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нейродегенеративные нарушения нейронов соматосенсорной коры белых крыс в возрасте 24 месяцев характеризуются выраженными явлениями апоптоза нервных клеток, а также признаками протеинопатии — нарушением белкового обмена в виде накопления внутри и внеклеточного амилоида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антошкин О. Н., Загребин В. Л., Тюренков И. Н. и др. Возрастные изменения и амилоидогенез в нейронах коры больших полушарий головного мозга при экспериментальной нейродегенерации и фармакологической коррекции фенибутом // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2014. — № 4 (52). — С. 128—130.
2. Воробьева А. А. Болезнь Альцгеймера / А. А. Воробьева, А. В. Васильев // Русский медицинский журнал. — 2009. — Т. 17, № 11. — С. 801—804.
3. Гусев Е. И., Коновалов А. Н., Скворцова В. И., Гехт А. Б. Неврология: национальное руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 1040 с.
4. Ермилов В. В., Тюренков И. Н., Нестерова А. А., Загребин В. Л. Болезнь Альцгеймера и геронтоофтальмологические заболевания в аспекте амилоидогенеза // Архив патологии. — 2013. — № 2. — С. 37—41.

5. Макаренко И. Е., Авдеева О. И., Ванатиев Г. В. и др. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным // Международный вестник ветеринарии. — 2013. — № 3. — С. 78—84.

6. Шелковникова Т. А. Протеинопатии — формы нейродегенеративных заболеваний, в основе которых лежит патологическая агрегация белков / Т. А. Шелковникова, А. А. Куликова, Ф. О. Цветков и др. // Молекулярная биология. — 2012. — Т. 46, № 3. — С. 402—415.

7. Parnell M. Ocular manifestations of Alzheimer's disease in animal models / M. Parnell, L. Guo, M. Abdi, M. Cordeiro // Int J Alzheimers Dis. — 2012. — Vol. 39. — P. 187—204.

8. Skovronsky D. Neurodegenerative diseases: new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications / D. Skovronsky, V. Lee, J. Trojanowski // Annu Rev Pathol. — 2006. — № 1. — P. 151—170.

Контактная информация

Антошкин Олег Николаевич — ассистент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: olegantoshkin@bk.ru