

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ И АМИЛОИДОГЕНЕЗ В НЕЙРОНАХ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ФЕНИБУТОМ**О. Н. Антошкин, В. Л. Загребин, И. Н. Тюренков, О. В. Фёдорова, А. С. Егорова***Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, кафедра патологической анатомии,
кафедра фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей*

Описаны морфологические изменения нейронов коры больших полушарий головного мозга при стрессорной нейродегенерации с амилоидогенезом в эксперименте и при фармакологической коррекции. Выявлено, что стрессорные воздействия у крыс в пожилом возрасте вызывают нейродегенеративные изменения нейронов коры больших полушарий головного мозга с нарушением белкового обмена в виде внутри- и внеклеточного накопления амилоида, апоптозом нейронов. Превентивное введение фенибута позволяет сохранить нормальную микроциркуляцию и противостоять дегенеративным изменениям нервных клеток.

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

AGE-RELATED CHANGES AND AMILOIDOGENESIS IN CORTICAL NEURONS OF THE CEREBRAL HEMISPHERES IN EXPERIMENTAL NEURODEGENERATION AND TREATMENT WITH PHENIBUT**O. N. Antoshkin, V. L. Zagrebin, I. N. Tyurenkov, O. V. Fedorova, A. S. Egorova**

The article describes morphological changes in the cerebral cortex neurons in a stress-induced neurodegeneration experimental model accompanied by amiloidogenesis and pharmacological treatment with phenibut. We revealed that in senior rats stress induced neurodegenerative changes in the cerebral cortex neurons resulting in protein metabolic disturbances. These disturbances are characterized by the intra- and extracellular accumulation of amyloid proteins as well as apoptotic neurons. Prophylaxis with phenibut improves microcirculation and prevents degenerative changes in the nerve cells.

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

Одним из ведущих нейродегенеративных заболеваний сегодня является болезнь Альцгеймера, от которого страдает примерно 24,3 млн человек в возрасте 65 лет и старше, что составляет примерно 10 % мирового населения [6]. Ежегодно в мире регистрируется 4,6 млн новых случаев заболевания болезнью Альцгеймера. С увеличением продолжительности жизни доля этого заболевания в общей структуре патологии увеличивается с 19 % в возрасте с 75—84 лет до 30—35 % в возрасте старше 85 лет [3].

По прогнозируемым данным, в связи со старением населения РФ цифра распространенности болезни Альцгеймера будет неуклонно расти, приближаясь к 1 % от всего населения страны к 2020 г., количество больных увеличится на 28 % к тому же времени [6]. Средняя продолжительность жизни после установления диагноза составляет около 7 лет, менее 3 % больных живут более 14 лет [12].

Объективный диагноз болезни Альцгеймера требует гистологического исследования на предмет наличия амилоидных бляшек и нейрофибриллярных сплетений, что является абсолютным доказательством данного вида патологии на сегодняшний день.

Всестороннее исследование данного феномена позволяет сделать вывод о том, что между возникновением клубков гиперфосфорилированного тау-белка и амилоидных бляшек должна быть тесная взаимосвязь.

Исследования и сравнительный анализ результатов многочисленных экспериментальных работ утверждают, что краеугольным фактором амилоидоза нейронов и ранней стадией болезни Альцгеймера являются особенности белкового синтеза в нейронах, запрограммированные в процессе эволюции ЦНС, и образование порочного круга обоюдной стимуляции — индуцированное амилоида-бетта, увеличение интенсивности синтеза белка-предшественника амилоида, которое влечет увеличение концентрации молекул бета-амилоида [8].

Морфология болезни Альцгеймера характеризуется рядом типичных признаков, к числу которых относятся атрофия серого вещества головного мозга, утрата нейронов и синапсов, грануловакуолярная дегенерация, глиоз, сенильные бляшки и нейрофибриллярные клубки, а также амилоидная ангиопатия [4, 9, 11].

По последним данным основным механизмом нейрональной гибели при болезни Альцгеймера считается апоптоз, однако не исключается и участие так называемого онкотического некроза [11].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявление морфологических изменений нейронов коры больших полушарий головного мозга при стрессорной нейродегенерации с амилоидогенезом в эксперименте и при фармакологической коррекции.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 30 нелинейных белых крысах самцах в возрасте 24 месяцев. Стрессорное воздействие воспроизводилось методом комбинированного ежедневного 30-минутного воздействия вибрации, шума и света на крыс в течение семи дней. Были сформированы следующие группы по 10 животных в каждой: 1) интакт-контроль, 2) стресс, 3) стресс с коррекцией фенибутом. Интактная группа не подвергалась стрессорному воздействию и получала соответственно массе эквивалентный объем физиологического раствора. Второй и третьей группам в течение семи дней за 30 минут до стрессорного воздействия внутривенно вводили соответственно физиологический раствор [7] или фенибут в дозе 25 мг/кг [1, 2, 10]. О психоневрологическом состоянии животных судили по их поведению в тестах «Открытое поле» (ОП), «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ). «Обучение» и «воспроизведение 1» в тесте УРПИ проводились с интервалом 24 часа. «Воспроизведение 1» и первое тестирование в «Открытом поле» выполнялись за день до начала моделирования комбинированного стрессорного воздействия. «Воспроизведение 2» в тесте УРПИ и второе тестирование в «Открытом поле» проводились на следующий день после окончания стрессорного воздействия.

После окончания эксперимента животные забивались, гистологическому исследованию подвергались большие полушария головного мозга. На микротоме изготавливались серийные фронтальные срезы в rostro-каудальном направлении, толщиной 7 мкм, в обработку брались стекла лобной, теменных и височных долей головного мозга. Гистологические препараты окрашивались на базофильное вещество по Ниссля и конго красным на амилоид.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

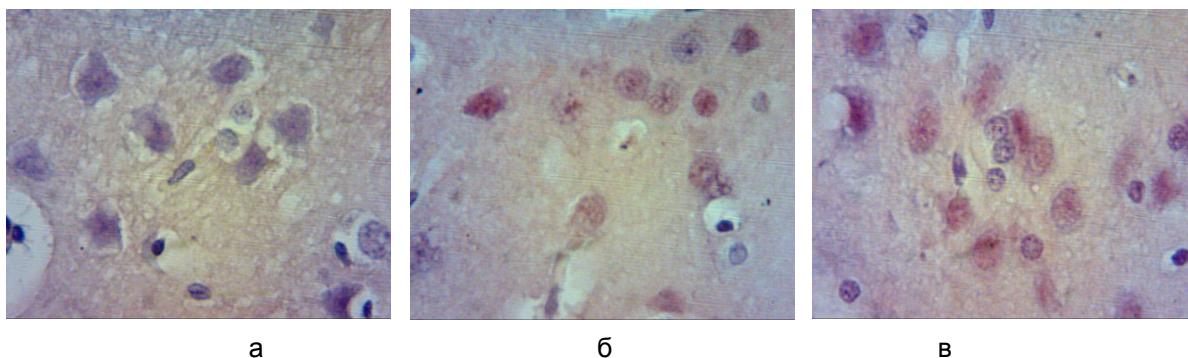
Стрессорное воздействие вибрации, шума и света семикратно по 30 мин раз в день в равной степени снижало двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность у животных. Применение фенибута уменьшало выраженность этих изменений. Так, стрессорное воздействие вибрации, шума и света в

течение семи дней приводило к развитию амнезии у животных. У стрессированных животных латентный период первого захода в темный отсек в тесте УРПИ составил ($110,7 \pm 27$) с, в то время как ни одно интактное животное не зашло в темный отсек. Наблюдались мнестический дефицит и ухудшение формирования и сохранения памятного следа. Применение фенибута увеличивало латентный период захода животных в темный отсек и снижало количество животных зашедших в него.

Данные гистологического анализа показали наличие нейродегенеративных изменений в коре больших полушарий головного мозга стрессированных крыс. Отмечалась редукция плотности сети микрососудов и, как следствие, снижение микроциркуляторного кровотока и кислородного обеспечения ткани у старых крыс. Нейроны характеризовались крупным светлым, практически прозрачным ядром, занимавшим более половины цитоплазмы. В ядре эксцентрично расположенные ядрышки в состоянии сегрегации имели грушевидную форму, нередко примыкали к кариолемме. Нейроны преимущественно имели нетипичную прозрачность кариоплазмы в виде отсутствия рассеянного мелкодисперсного хроматина, в норме заполняющего центральную часть ядра. Наряду с обычной концентрацией гранул хроматина вдоль кариолеммы, он нередко образовывал крупные гетерохроматиновые скопления, диффузно распределенные по всей кариоплазме. 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. 1 б).

В группе интактных животных хроматин в ядре был четко выражен и образовывал глыбки или полоски (гетерохроматин), а в перикарионе наблюдалось достаточное количество базофильного вещества (рис. 1 а).

Гистологический анализ в третьей группе животных с профилактикой фенибутом показал нормальное распределение нейронов, с характерным строением для данной возрастной группы, картины апоптоза встречались крайне редко. Ядро имело правильную форму, заполнено хроматином и имело центрально расположенное ядрышко с четкими ровными контурами (рис. 1 в).



а — интакт-контроль, б — стресс, в — стресс с коррекцией фенибутом

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 группе стрессированных животных и в группе с профилактикой фенибутом (рис. 2 б, 2 в).

В интактной группе, несмотря на возраст крыс, амилоид не выявлен (рис. 2 а).

Однако профилактика постстрессовых изменений фенибутом показала сохранение качественных харак-

теристик в структуре клеток, которые имели отчетливую правильную отростчатую форму, структурированное ядрышко и гетерохроматин по окружности кариолеммы.

Таким образом, можно сказать, что стресс ускоряет и/или приводит к обострению когнитивных нарушений у пожилых. Фенибут улучшает сохранение памятного следа после воздействия хронического комбинированного стресса, поэтому применение лекарственных средств со стресспротективным действием в пожилом возрасте может уменьшить развитие когнитивных нарушений.

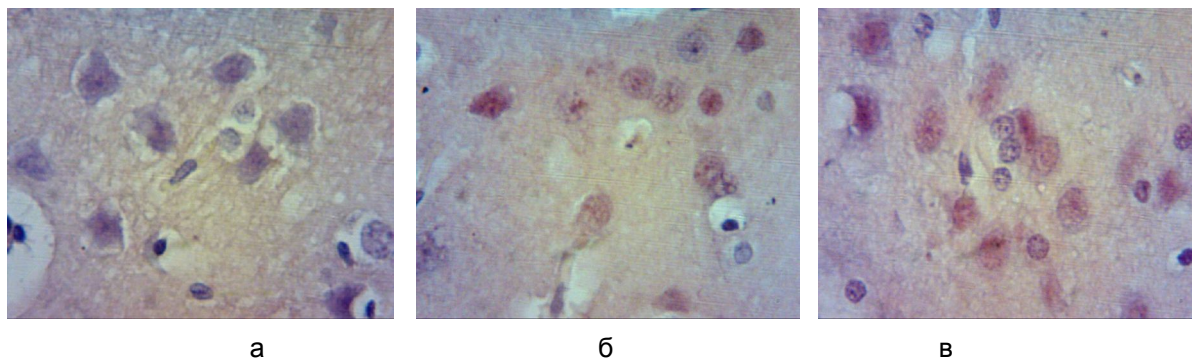


Рис. 2. Нейроны коры больших полушарий, окраска на амилоид конго красным + гематоксилин, ув. 640: а — интакт-контроль, б — стресс, в — стресс с коррекцией фенибутом

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стрессорные воздействия у крыс в пожилом возрасте вызывают нейродегенеративные изменения нейронов коры больших полушарий головного мозга с нарушением белкового обмена в виде внутри- и внеклеточного накопления амилоида, апоптозом нейронов. Превентивное введение фенибута позволяет сохранить нормальную микроциркуляцию и противостоять дегенеративным изменениям нервных клеток. Экстраполируя полученные данные, можно предположить, что у пожилых людей фенибут позволит также уменьшить негативное влияние стресса на когнитивную функцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волотова Е. В. и др. Влияние фенибута на память и поведение крыс различных возрастных групп, подвергшихся 7-дневному комбинированному стрессорному воздействию // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2014. — № 1 (49). — С. 23—26.
2. Волотова Е. В., Куркин Д. В., Тюренков И. Н., Литвинов А. А. Церебропротективное действие производных гамма-аминомасляной кислоты при острой ишемии головного мозга крыс // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2011. — № 2. — С. 72—75.
3. Воробьева А. А., Васильев А. В. Болезнь Альцгеймера // Русский медицинский журнал. — 2009. — Т. 17, № 11. — С. 801—804.
4. Гаврилова С. И. Фармакотерапия болезни Альцгеймера. — М.: Пульс, 2007. — 360 с.
5. 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.

6. Кадыков А. С., Кадыков А. В. Болезнь Альцгеймера: механизмы развития и лечение // Фарматека. — 2009. — № 7. — С. 55—57.
7. 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.
8. Мальцев А. В. и др. Интенсивный синтез белка в нейронах и фосфорилирование белка предшественника Бета-амилоида и тау-белка являются пусковыми факторами Амилоидоза нейронов и болезни Альцгеймера // Биомедицинская химия. — 2013. — Т. 59, № 2. — С. 144—170.
9. Одинак М. М. Церебральная дегенеративно-дilatационная артериопатия / М. М. Одинак [и др.] // Вестн. Росс. воен. мед. акад. — 2005. — Т. 14, № 2. — С. 14—18.
10. Перфилова В. Н. и др. Влияние цитрокарда на функциональные резервы сердца в условиях хронического стрессорного воздействия // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины — 2007. — Т. 144, № 7. — С. 24—29.
11. Jellinger K. A. Cell death mechanisms in neurodegeneration // Cell. mol. med. — 2001. — Vol. 5, № 1. — P. 1—17.
12. Skovronsky D. M., Lee V. M., Trojanowski J. Q. Neurodegenerative diseases: new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications. // Ann. Rev. Pathol. — 2006. — Vol. 1. — P. 151—170.

Контактная информация

Антошкин Олег Николаевич — ассистент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: alligator2006@bk.ru