

© Коллектив авторов, 2015
УДК 616.831:616.45

ВОЗРАСТНАЯ И СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННАЯ ПРОТЕИНОПАТИЯ НЕЙРОНОВ БОЛЬШОГО МОЗГА КРЫС

*В.Л. Загребин, О.Н. Антошкин, О.В. Фёдорова,
А.В. Терентьев, С.А. Саргсян, А.С. Егорова*

Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград

Проведено исследование морфофункциональных изменений нейронов и глии коры большого мозга белых крыс на этапах старения и при стрессорной нейродегенерации в эксперименте. Установлено, что возрастные нейродегенеративные изменения нейронов соматосенсорной коры белых крыс в возрасте 30 месяцев характеризуются выраженными явлениями протеинопатии и развитием апоптоза нервных клеток, которые усиливаются при воздействии стрессорных факторов с явным нарушением белкового обмена в виде накопления внутри и внеклеточного амилоида.

Ключевые слова: протеинопатия, нейродегенерация, апоптоз, нейрон, болезнь Альцгеймера, амилоид, стресс.

Возрастные изменения нервной ткани характеризуются явлениями протеинопатии в виде отложения внутри- и внеклеточного β -амилоида, образования внутриклеточных нейрофибриллярных сплетений в результате гиперфосфорилирования тау-белка, а также гибелью части нейронов [3, 4, 6]. Выявление молекулярных основ протеинопатии и определение возможных терапевтических мишеней стимулировало разработку новых болезнью-модифицирующих препаратов. Одним из ключевых звеньев патогенеза протеинопатии является образование двух типов характерных гистопатологических включений: сенильных бляшек, в формировании которых основную роль играют амилоидные пептиды, образующиеся при специфическом расщеплении белка-предшественника амилоида, 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-протеинопатии и β -амилоидоза является актуальной задачей коррекции протеинопатии нейронов [1, 2, 5, 7].

Целью работы стало выявление морфофункциональных изменений нейронов и глии коры большого мозга белых крыс на этапах старения и при стрессорной нейродегенерации в эксперименте.

Материалы и методы

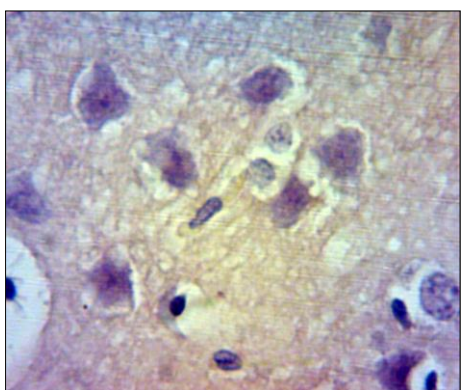
Исследование выполнено на 30 белых крысах самцах в возрасте 18 и 30 месяцев. Были сформированы следующие группы по 10 животных в каждой: 1) крысы 18 месяцев (интактные), 2) крысы 30 месяцев (интактные – контроль), 2) опытная группа крыс 30 месяцев (стресс). Стрессорное воздействие воспроизводилось методом ежедневного 30-минутного комбинированного физического и процессивного стрессорного воздействия на крыс в течение 7 дней. 1 и 2 группы не подвергались стрессорному воздействию. После окончания эксперимента животные забивались декапитацией, на микротоме изготавливались серийные фронтальные срезы в rostro-каудальном направлении,

толщиной 5-7 мкм. Гистологические препараты окрашивались гематоксилин-эозином для анализа ядерно-цитоплазматического индекса, тионином по Нисслю для оценки перикариона и конго красным с последующей дифференцировкой в щелочном этаноле.

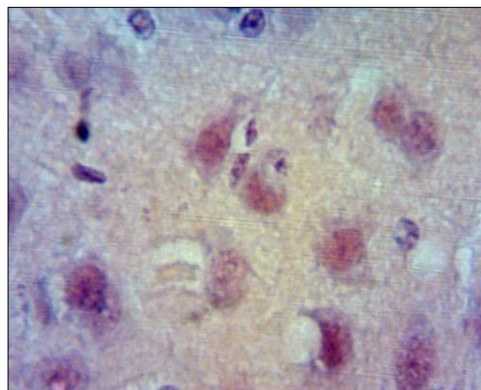
Результаты и их обсуждение

На фронтальных срезах коры большого мозга животных первой группы нейроны

и глиальные клетки имели нормальную структуру с выраженным перикарионом нейроцитов, отражающим активную синтетическую функцию. Во второй возрастной группе интактных животных наблюдалось изменение ядерно-цитоплазматического индекса, высветление кариоплазмы, уменьшение плотности перикариона при окраске по Нисслю, в единичных нейронах наблюдались признаки апоптоза.



а



б

Рис. 1. Срезы коры большого мозга крыс: а) 18 месяцев (интактные), б) 30 месяцев (интактные), окраска конго красным с докраской гематоксилином, ув. 640

В третьей группе стрессированных животных были выражены признаки нейродегенеративных изменений в нейронах соматосенсорной коры больших полушарий головного мозга. Отмечалось уменьшение 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. Отмечались нейроны с явными признаками апоптоза: пикнотическое ядро, крупные глыбки гетерохроматина, неразличимые с деформированным ядрышком, сморщенная цитоплазма. При окраске конго красным на амилоид и докраской ядер гематоксилином выявлены белковые внутриклеточные включе-

ния и отмечены внеклеточные фибриллярные структуры, характеризующие качественные изменения, связанные с протеинопатией и выработкой патологических белков в третьей группе стрессированных животных.

Количественная оценка амилоидного компартмента методом имидж-анализа в программном комплексе Image Pro Plus 6.0, сопряженной с MS Excell для статистической обработки, показала статистически достоверное увеличение количества амилоидных отложений в нейронах коры головного мозга стрессированных крыс (удельная площадь – $7,62 \pm 0,47\%$) по сравнению с возрастным контролем во второй группе интактных животных (удельная площадь – $0,41 \pm 0,08\%$), $p < 0,001$. Наряду с внутриклеточными включениями в препаратах были выражены и внеклеточные отложения амилоида, что согласуется с мнением ряда авторов о депонировании

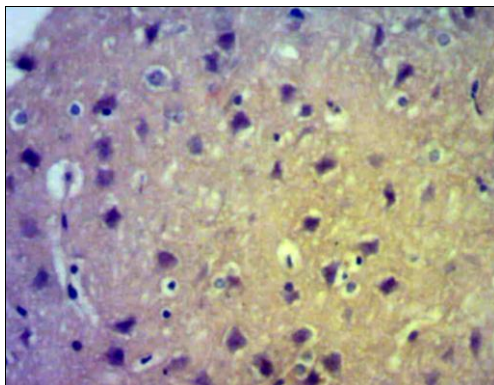


Рис. 2. Срез коры большого мозга крыс 30 месяцев после стрессорного воздействия, окраска конго красным с докраской гематоксилином, ув. 160

амилоида в составе инертных экстраклеточных структур (бляшек), что 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.

Выводы

Возрастные нейродегенеративные изменения нейронов соматосенсорной коры белых крыс в возрасте 30 месяцев характеризуются выраженными явлениями протеинопатии и развитием апоптоза нервных клеток, которые усиливаются при воздействии стрессорных факторов с явным нарушением белкового обмена в виде накопления внутри и внеклеточного амилоида.

Литература

1. Болезнь Альцгеймера и геронтофтальмологические заболевания в аспекте амилоидогенеза / В.В. Ермилов [и др.] // Архив патологии. – 2013. – №2. – С. 37-41.
2. Возрастные изменения и амилоидогенез в нейронах коры больших полушарий головного мозга при экспериментальной нейродегенерации и фармакологической коррекции фенибутом / О.Н. Антошкин [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2014. – № 4(52). – С. 128-130.
3. Воробьева А.А. Болезнь Альцгеймера / А.А. Воробьева, А.В. Васильев // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, № 11. – С. 801-804.
4. Неврология: национальное руководство / Е.И. Гусев [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1040 с.
5. Протеинопатия и апоптоз нейронов головного мозга при экспериментальной нейродегенерации у крыс / О.Н. Антошкин [и др.] // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – № 1(53). – С. 122-124.
6. Протеинопатии – формы нейродегенеративных заболеваний, в основе которых лежит патологическая агрегация белков / Т.А. Шелковникова [и др.] // Молекулярная биология. – 2012. – Т. 46, № 3. – С. 402-415.
7. 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.

**AGE-RELATED AND STRESS-INDUCED PROTEINOPATHY
OF CEREBRAL NEURONS IN RATS**

*V.L. Zagrebin, O.N. Antoshkin, O.V. Fedorova,
A.V. Terentiev, S.A. Sargsyan, A.S. Egorova*

A study of morphological and functional changes in neurons and glial cells of the cerebral cortex of white rats at the stages of aging and stress-induced neurodegeneration under experiment was investigated. It was found that the age-related neurodegenerative changes in somatosensory cortex neurons of white rats at the age of 30 months are characterized with pronounced signs of proteoinopathy and developing of apoptosis, which is enhanced by exposure to stress factors in clear violation of protein metabolism in the form of accumulation of intra- and extracellular amyloid.

Keywords: *proteoinopathy, neurodegeneration, apoptosis, neuron, Alzheimer's disease, amyloid, stress.*

Загребин В.Л. – к.м.н., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет.

E-mail: vlzagrebin@volgmed.ru

Антошкин О.Н. – клинический ординатор кафедры патологической анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет.

E-mail: olegantoshkin@bk.ru

Фёдорова О.В. – к.м.н., доц. кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет.

E-mail: ovfedorova@yandex.ru

Терентьев А.В. – ассист. кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет.

E-mail: kocha.2009@yandex.ru

Саргсян С.А. – студент 4 курса лечебного факультета, Волгоградский государственный медицинский университет.

E-mail: sar-mk1993@mail.ru

Егорова А.С. – ассист. кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет.

E-mail: anastasiya_egorova_80@mail.ru