

*Н.Г. Ямщикова, А.В. Ставровская, С.Н. Иллариошкин*

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

ФГБНУ НЦН, Москва

DOI: 10.18454/ASY.2018.12.4.030

**N. G. Yamschikova, A. V., Stavrovskaya, S. N. Illariushkin**

**SOME ASPECTS OF THE DEVELOPMENT OF NEURODEGENERATIVE DISEASES**

Рассмотрены традиционные концепции нейродегенеративных заболеваний таких как болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера. Обсуждаются роль воспалительного процесса и хронической инфекции в развитии нейродегенеративного процесса при болезни Паркинсона. Рассматриваются некоторые современные аспекты развития НДЗ, в частности, влияния микробиома на развитие болезни Паркинсона.

Одна из главных проблем современной неврологии - изучение механизмов возраст-зависимых нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), в основе которых лежит процесс необратимой гибели нейронов в определённых структурах центральной нервной системы, сопровождающийся прогрессирующими неврологическими нарушениями, включая двигательные, а также когнитивные расстройства, вплоть до развития деменции.

Несмотря на многочисленные и многолетние исследования, проводимые в разных странах, механизмы НДЗ остаются ещё не до

конца изученными. Существующие концепции патогенеза НДЗ не дают полной картины возникновения и развития нейродегенеративного процесса.

Наиболее распространёнными НДЗ являются болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона. Болезнь Паркинсона (БП) характеризуется прогрессирующей потерей дофаминергических нейронов в черной субстанции и, соответственно, снижением уровня дофамина в стриатуме, что приводит к возникновению двигательных симптомов, таких как брадикинезия, ригидность и тремор. В основе заболевания лежит нарушение конформации везикулярного белка  $\alpha$ -синуклеина, инициирующее его фибриллизацию с формированием нейротоксичных цитоплазматических агрегатов и телец Леви. Патология  $\alpha$ -синуклеина при БП обусловлена специфическим взаимодействием средовых факторов, особенностей генома и системного метаболизма [2]. Согласно концепции конформационных заболеваний,

предполагается, что определённый белок или нескольких белков способствуют инициации и прогрессированию болезни [1]. Так, при БП может происходить внутриклеточное накапливание не только альфа-синуклеина, но и бета-амилоида. При этом болезнь протекает с развитием деменции, постуральной неустойчивости и т.д [15]. По результатам позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) с радиолигандом, меченным на бета-амилоид, у пациентов с разными стадиями БП было обнаружено кортикальное накопление бета-амилоида, что может служить определяющим фактором, свидетельствующим о переходе от ранних стадий к поздним стадиям этого заболевания [16].

Известно, что болезнь Альцгеймера (БА) представляет собой сложный комплекс различных патогенных процессов, к числу которых относятся накопление амилоидных бляшек и нейрофибрилл, дефицит холинергической передачи, гибель нейронов, снижение количества ростовых факторов, нарушение когнитивных функций. Одним из давно известных функциональных расстройств, наблюдаемых при БА, является поражение холинергической системы мозга, которое приводит к развитию нарушения пространственной ориентации и памяти [11, 17, 28]. Дегградация нейронов холинергической системы в свою очередь приводит к снижению количества нейротрофических факторов [25]. С другой стороны,

недостаток ростовых факторов провоцирует гибель нейронов холинергической системы [39,20]. Другим наиболее характерным признаком БА является образование в тканях мозга амилоидных бляшек [31,10]. Бета-амилоид (A $\beta$ ) является фрагментом белка предшественника APP – трансмембранного белка, играющего важную роль в росте, выживании нейронов и их восстановлении после повреждения. Под действием  $\alpha$ -секретазы APP расщепляется с образованием A $\beta$ . Сам APP оказывает защитное действие на нейроны, а продукт его расщепления A $\beta$  оказывает повреждающее воздействие на функцию нейронов и когнитивные способности.

В последние десятилетия наибольшее изучение и развитие получила наряду с бета-амилоидной и тау-гипотеза, согласно которой каскад нарушений запускается в структуре тау-белка. Предполагается, что нити гиперфосфорилированного тау-белка, образуя нейрофибриллярные клубки внутри нервных клеток, вызывают дезинтеграцию микротрубочек и всей транспортной системы внутри нейрона, а также нарушают процессы жизнедеятельности клеток и, в конечном итоге, их гибель [31, 14, 12].

В настоящее время накопление результатов многочисленных исследований как за рубежом, так и в нашей стране приводит к необходимости переосмысления и дополнения общепринятых концепций патогенеза НДЗ, что

находит отражение в больших обзорных работах [2,4].

Появились исследования, в которых рассматривается вопрос о соотношении нейродегенеративного и воспалительного процессов, а именно: что первично, а что является вторичным при развитии НДЗ. Воспалительный процесс выявляется практически при всех заболеваниях ЦНС, почти во всех структурах мозга [13, 21] и развивается при участии микроглиальных клеток, астроцитов и выделяемых ими про- и противовоспалительных факторов. Вопрос о роли воспаления в патогенезе БП рассматривается в ряде исследований [27, 19, 5, 4], которые свидетельствуют об участии активированной микроглии в механизмах дегенерации ДА нейронов в ЧС посредством выделения провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода и протеаз. Исследования последних лет подтверждают и детализируют эти факты. По мнению одних авторов [5], при воспалительной реакции наряду с повреждением нейронов, происходит активация клеток микроглии. Из повреждённого нейрона высвобождается нейромеланин и агрегированный альфа-синуклеин – всё это способствует активации микроглии и, соответственно, усилению синтеза нейротоксических факторов, а также непрерывному нарастанию нейродегенеративного процесса. По мнению других авторов [4] (И.В.Литвиненко, с соавт., 2017) при

нейродегенеративных заболеваниях хроническая активация микроглии и астроглии приводит к реактивному микроглиозу и астроглиозу. Глиоз нарушает процессы нейропластичности и усиливает нейротоксические эффекты альфа-синуклеина и цитокинов, т.е. развитие дегенеративного процесса при БП происходит при активном участии микроглии с вовлечением не только астроглии, но и олигодендроцитов. Данные о патологии проводящих путей и миелинизированных волокон указывают на определенную их роль в прогрессировании болезни [3, 6].

Обычно БП протекает медленно, но различные воздействия (травма головного мозга, инфекция, токсическое воздействие) провоцируют воспалительную реакцию, негативно влияя на симптомы болезни. Изучение этих фактов привело к пониманию роли воспаления в ЦНС, которое может быть фактором, способствующим прогрессированию как моторных, так и немоторных симптомов БП [32, 30]. Воспалительный процесс может быть запущен вирусной инфекцией, которая рассматривается как этиологический фактор БП. В качестве индуцирующего БП агента может быть и вирус простого герпеса. Известно, что этот вирус мигрирует в ЦНС по волокнам обонятельных нервов [22], а зона его репродукции находится в центральной части обонятельного анализатора. Предполагается, что аномальная  $\beta$ -форма  $\alpha$ -синуклеина, образуясь в эпителии обонятельных луковиц, под влиянием факторов

внешней среды распространяется в структуры мозга, имеющие связи с обонятельными луковицами [18]. Согласно данной гипотезе, нейродегенеративный процесс при БП последовательно проходит от обонятельной луковицы и прилегающей части переднего обонятельного ядра, дорсального моторного ядра блуждающего нерва до первичных моторных и сенсорных зон коры [8].

Помимо обонятельного пути нейродегенеративный процесс при БП может поражать парасимпатические нейроны подслизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, о чём свидетельствует выявление в клетках мейсснера и ауэрбаха нервных сплетений агрегатов альфа-синуклеина [9] и дальнейшее проникновение с периферии в ЦНС по волокнам блуждающего нерва [15].

В последнее время внимание учёных привлекла проблема микробиома человека, точнее его участие в развитии различных заболеваний. Инициированный Национальным институтом здоровья США в 2007 г научный проект «Микробиом человека», объединивший разработки ученых из разных стран мира, по итогам десятилетней работы привел к серьёзным изменениям во взглядах ученых на биологию человека и развитие многих заболеваний. Было показано, что микробиом активно участвует в пищеварении, многочисленных метаболических процессах, поддержании целостности эпителиального

барьера, обезвреживании эндо- и экзогенных токсинов, развитии и поддержании иммунной системы и ряде других физиологических функций, создавая условия для нормального функционирования организма человека. Было установлено, что в организме человека обитает >10 тыс. видов различных микробов, включая бактерии, археи, грибы, простейшие и вирусы. При этом большинство видов бактерий и архей оказались некультивируемыми *in vitro*. Общая масса клеток всех представителей микробиома в среднем составляет 3% от массы тела человека.

Таким образом, микробиом является одним из самых крупных органов человека. Микробиом каждого человека является уникальным для него и содержит в десятки раз больше клеток и в 100 раз больше генов, чем собственных генов человеческого организма. Вес микробиома зависит от массы тела и может составлять от 1,2 до 3,5 кг. Микробиом влияет буквально на все стороны нашей жизни. Вредоносные бактерии ведут к развитию болезней, полезные защищают нас от патогенных микробов, обезвреживают токсины, производят необходимые витамины и гормоны, помогают усваиваться важным микроэлементам из пищи. Исследования также показали важную роль микробиома в психическом здоровье. Здоровая, сбалансированная кишечная микробиота способствует сильной иммунной системе и более низким уровням хронического воспаления. Напротив, нездоровая микробиота

связана с ожирением, астмой, аллергией и аутоиммунными расстройствами, такими как, диабет 1 типа, воспалительное заболевание кишечника и ревматоидный артрит. Также считается, что хроническое воспаление является основной причиной сердечно-сосудистых заболеваний, диабета типа 2 и некоторых форм рака. Есть исследования, результаты которых позволяют предположить об определённой роли хронического воспаления в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), как фактора запускающего нейродегенеративный процесс, в том числе при БП [24]. В исследованиях на мышах было установлено, что микробиоматериал пищеварительного тракта вызывал моторные нарушения, активацию микроглии и накопление патологического белка альфа-синуклеина в мозге. Оказалось, что пероральное введение определенных микробных метаболитов кишечной флоры стерильным мышам вызывает воспаление в ЦНС и моторные симптомы паркинсонизма. Так, микробное обсеменение кишечника мышей, которые экспрессируют альфа-синуклеин, микробиоматериалами кишки от пациентов с БП усиливает моторные симптомы по сравнению с пересадками микробиоматериалов от здоровых человеческих доноров.

Хроническое воспаление в тонкой кишке может приводить к активации глиальных клеток энтеральной нервной системы (преимущественно вегетативных

волокон) и нарушению конформационных свойств альфа-синуклеина, молекулы которого по афферентным волокнам блуждающего нерва транссинаптически проникают в ЦНС и начинают проявлять прионоподобные свойства. Это предположение подтверждено результатами многолетних исследований, в которых показано снижение риска развития БП в 2 раза у лиц, после двухсторонней ваготомии [26]. Результаты изучения биопсийного материала прямой кишки, подтверждают наличие воспаления и дисфункции кишечного барьера у пациентов с БП, способствующих накоплению патологических форм фосфорилированного альфа-синуклеина в подслизистых ганглиях и нервных волокнах [7]. Авторы предполагают, что одним из терапевтических направлений при БП может являться модификация кишечного микробиома, снижение проницаемости кишечного барьера с целью устранения дисбиоза и хронического воспаления, как, возможно, первого этапа в последующем разрушении процесса нейродегенерации при этом заболевании.

Таким образом, становится очевидно, что агенты, провоцирующие воспаление, могут способствовать развитию хронических прогрессирующих заболеваний нервной системы и являться пусковыми факторами нейродегенерации. Разработка направлений, влияющих на

воспалительный процесс в целом, устранение дисбиотических изменений в ЖКТ, подавление целого ряда сопряженных метаболических сдвигов позволят создать основу развития профилактики нейродегенеративных заболеваний.

В заключении следует заметить, что новые современные исследования никоим образом не отменяют традиционные концепции патогенеза НДЗ, а только дополняют и расширяют представления о причинах возникновения и развитии нейродегенеративного процесса. Вместе с тем они позволяют находить новые терапевтические подходы для лечения НДЗ.

### Литература

1. Иллариошкин С.Н. Конформационные болезни мозга. М.: Янус-К, 2003.
2. Иллариошкин С.Н. Современные представления об этиологии болезни Паркинсона. Неврологический журнал. 2015;20(4):4-13.
3. Литвиненко И.В., Одинак М.М., Сологуб О.С., Могильная В.И., Шмелева В.М., Сахаровская А.А. Гипергомоцистеинемия при болезни Паркинсона — новый вариант осложнений проводимой терапии или специфический биохимический маркер заболевания? *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2008;2(2):13-17.
4. Литвиненко И.В., Красаков И.В., Бисага Г.Н., Скулябин Д.И., Полтавский И.Д. Современная концепция патогенеза нейродегенеративных заболеваний и стратегия терапии. *Журнал неврологии и психиатрии*, 2017; 6(2):1- 8
5. Милюхина И.В., Карпенко М.Н., Тимофеева А.А., Клименко В.М., Скоромец А.А., Роль воспаления в патогенезе болезни Паркинсона «Нейронауки и клиническая неврология», 2013
6. Труфанов А.Г., Литвиненко И.В., Ефимцев А.Ю. Поражение анатомических проводящих путей головного мозга на 2—3 стадиях (по Хену и Яру) болезни Паркинсона. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2012;50(4):36-40
7. Barrenschee M, Zorenkov D, Böttner M, Lange C, Cossais F, Scharf AB, Deuschl G, Schneider SA, Ellrichmann M, Fritscher-Ravens A, Wedel T. Distinct pattern of enteric phospho-alpha-synuclein aggregates and gene expression profiles in patients with Parkinson's disease. *Acta Neuropathologica Communications*. 2017;5(1):1
8. Braak H., Del Tredici K., Bratzke H., Hamm-Clement J., Handmann-Keil D., Rub U. Staging of the intracerebral inclusion body pathology associated with idiopathic Parkinson's disease (preclinical and clinical stages). *J. Neurol*. 2002; 249 (Suppl. 3): III/1—5.
9. Braak H., de Vos R.A., Bohl J., Del Tredici K. Gastric alpha-synuclein

- immunoreactive inclusions in Meissner's and Aurbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci. Lett.* 2006; 396: 67—72
10. Citron, M., Strategies for disease modification in Alzheimer's disease. // *Nat Rev Neurosci*, 2004;5:677-685.
11. Coyle, J.T., Price, D.L., DeLong, M.R., Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. // *Science*, 1983;219:1184-90.
12. Demetrius L., Magistretti P., Pellerin L. Alzheimer's disease: the amyloid hypothesis and the inverse Warburg test. *Frontiers in Physiology* 2015; 5:2-20
13. Glass C.K., Saijo K., Winner B., Marchetto M.C., Gage F.H. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell.* 2010; 140 (6): 918—34.
14. Iqbal K., Bolognin S., Wang X., Basurto-Islas G., Blanchard J., Tung Y. Animal models of the sporadic form of Alzheimer's disease: focus on the disease and not just the lesions. *Journal of Alzheimer's disease* 2013; 37:469-474
15. Hawkes C.H., Tredici K.D., Braak H. A timeline for Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2010; 16: 79—84.
16. Kotagal V, Bohnen NI, Müller ML, Frey KA, Albin RL. Cerebral Amyloid Burden and Hoehn and Yahr Stage 3 Scoring in Parkinson Disease. *Journal of Parkinson's Disease.* 2017. <https://doi.org/10.3233/JPD-160985>
17. Lawrence, A.D., Sahakian, B.J., The cognitive psychopharmacology of Alzheimer's disease: focus on cholinergic systems. // *Neurochem Res* 1998;23:787-794.
18. Lerner A., Bagic A. Olfactory pathogenesis of idiopathic Parkinson disease revisited. *Mov. Disord.* 2008; 23 (8): 1076—84.
19. Levesque S., Wilson B., Gregoria V., Thorpe L.B., Dallas S., Polikov V.S. et al. Reactive microgliosis: extracellular micro-cal-pain and microglia-mediated dopaminergic neurotoxicity. *Brain.* 2010; 133 (3): 808—21.
20. Longo, F.M., Massa, S.M., Neuroprotective strategies in Alzheimer's disease. *NeuroRx*, 2004;1:117-127.
21. Lucas S.M., Rothwell N.J., Gibson R.M. The role of inflammation in CNS injury and disease. *Br. J. Pharmacol.*, 2006; 147 (1): 232—40.
22. Mori I., Nishiyama Y., Yokochi T., Kimura Y. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *J. Neurovirl.* 2005; 11 (2): 129—37.
23. Petrou M, Dwamena BA, Foerster BR, MacEachern MP, Bohnen NI, Müller ML, Albin RL, Frey KA. Amyloid deposition in Parkinson's disease and cognitive impairment: a systematic review. *Movement Disorders.* 2015;30(7):928-935.
24. Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, Challis C, Schretter CE, Rocha S, Gradinaru V, Chesselet MF,

- Keshavarzian A, Shannon KM, Krajmalnik-Brown R, Wittung-Stafshede P, Knight R, Mazmanian SK. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell*. 2016;167(6):1469-1480.e12.
25. Siegel, G.J., Chauhan, N.B., Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Res Brain Res Rev*, 2000;33:199-227.
26. Svensson E, Horváth-Puhó E, Thomsen RW, Djurhuus JC, Pedersen L, Borghammer P, Sorensen HT. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Annals of Neurology*. 2015;78(4):522-529.
27. Tansey M.G., Goldberg M.S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Neurobiol. Dis.* 2010; 37(3):510-8.
28. Tong, X.K., Hamel, E., Regional cholinergic denervation of cortical microvessels and nitric oxide synthase-containing neurons in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1999;92:163-175.
29. Tuszynski, M.H., U, H.S., Alksne, J., Bakay, R.A., Pay, M.M., Merrill, D., Thai, L.J., Growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Neurosurg Focus*, 2002;13, e5.
30. Umemura A, Oeda T, Yamamoto K, Tomita S, Kohsaka M, Park K, Sugiyama H, Sawada H. Baseline Plasma C-Reactive Protein Concentrations and Motor Prognosis in Parkinson Disease. *PLoS One*. 2015;10(8):0136722.
31. Van Dam D., De Deyn P.-P., Animal models in the drug discovery pipeline for Alzheimer's disease. *British journal of Pharmacology* 2011; 164:1285-1300
32. Williams-Gray CH, Wijeyekoon R, Yarnall AJ, Lawson RA, Breen DP, Evans JR, Cummins GA, Duncan GW, Khoo TK, Burn DJ, Barker RA; ICICLE-PD study group. Serum immune markers and disease progression in an incident Parkinson's disease cohort (ICICLE-PD) *Movement Disorders* 2016;31(7):995-1003. <https://doi.org/10.1002/mds.26563>
33. Yamaguchi, H., Sugihara, S., Ogawa, A., Saido, T.C., Ihara, Y., Diffuse plaques associated with astroglial amyloid beta protein, possibly showing a disappearing stage of senile plaques. *Acta Neuropathol*, 1998; 95:217-222.

*А.В. Ставровская, Н.Г. Ямщикова, А.С. Ольшанский, А.С. Гущина*

## ВЫЯВЛЕНИЕ ДЕФИЦИТА КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У КРЫС С МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

DOI: 10.18454/ASY.2018.12.4.029

**A.V. Stavrovskaya, D. Yamshchikova, A. S. Olshansky, A. S. Gushchina**

**IDENTIFICATION OF DEFICITS IN COGNITIVE FUNCTIONS IN RATS WITH A MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE**

### Введение

Проблема когнитивных нарушений – одна из актуальных в современной неврологии. Особенно часто когнитивные расстройства возникают в пожилом возрасте при НДЗ. По статистике от 3 до 20 % лиц старше 65 лет имеют тяжелые когнитивные нарушения в виде деменции [1].

Болезнь Альцгеймера (БА)-нейродегенеративное заболевание (НДЗ), развивающееся преимущественно в пожилом возрасте и приводящее к неуклонному снижению интеллекта, нарушениям памяти и изменениям личности. Это сложный комплекс различных патогенных процессов, основными из которых являются накопление амилоидных бляшек и нейрофибрилл, дефицит холинергической передачи, гибель нейронов, снижение количества

ростовых факторов и как следствие - нарушение когнитивных функций.

Изучение когнитивных нарушений является одной из актуальных тенденций в современной неврологии, в этих целях экспериментальные модели на животных являются весьма востребованным и удобным инструментом. Одной из распространённых моделей БА на животных является стрептозоцин-индуцированная модель. Стрептозоцин-синтетический препарат, полученный из микроорганизмов *Streptomyces achromogenes* -впервые описан в 1950 г. как перспективный антибиотик. Идея использования стрептозоцина для моделирования БА возникла на основании представлений о спорадической болезни Альцгеймера, как о заболевании, этиологически сходном с сахарным диабетом [9]. Этими авторами сформулировано

понятие о спорадической БА, как о диабете 3-го, мозгового типа. При внутрибрюшинном введении стрептозоцин не проникает через ГЭБ, поэтому используют метод введения препарата в боковые желудочки мозга крыс. Известно, что стрептозоцин при стереотаксическом интравентрикулярном введении не оказывает влияния на функции поджелудочной железы и все его эффекты реализуются на уровне головного мозга.

Поведенческие тесты, касающиеся когнитивных проявлений НДЗ или психо-эмоциональных расстройств, обычно требуют длительного обучения животных с моделями таких заболеваний и значительных усилий исследователей [5, 9, 12]. Тест «Пазл-бокс», используемый в данной работе, основан на видоспецифическом предпочтении свет/тьма у грызунов. Выполнение этого теста не связано с длительным обучением животных, однако предполагает выбор различных форм поведения в ответ на представление новой задачи [6, 7, 8].

Цель настоящего исследования – изучение нарушения когнитивных функций у крыс со стрептозоцин-индуцированной деменцией по Альцгеймеровскому типу.

### Методика

Работа проводилась на крысах-самцах линии Wistar в возрасте 3-4 месяцев (n=14). Животные были

разделены на 2 равные по численности группы, опытную (STZ) и контрольную (NaCl). Для получения экспериментальной модели БА осуществляли введение стрептозоцина в боковые желудочки мозга по соответствующим координатам [11] в дозе 3 мг/кг в 5 мкл физиологического раствора. Контрольной группе животных вводили физиологический раствор в том же объёме. Через 2 недели после стереотаксической операции проводили тестирование полученных поведенческих нарушений.

Для изучения изменений когнитивных функций экспериментальных животных использовали установку «Пазл-бокс», которая представляет собой прямоугольную камеру, разделённую перегородкой на два отсека. Один – большой и ярко освещённый, другой – тёмный, меньшего размера, является укрытием, своеобразной «норкой», для животного, которое может попасть в него через лаз в полу под перегородкой. Тестирование осуществлялось в 5 этапов: 1-й этап – приучение индивидуальное: крысу помещали в центр освещённого отсека с открытым лазом и фиксировали время захода в «норку»; 2-й этап – «первая проба» – проводился через сутки. Лаз засыпался стружкой до уровня пола камеры, но был заметен. Крысе предоставлялась возможность в течение 5 мин проникнуть в

«норку». 3-й этап – через сутки повторяется «первая проба»; 4-й этап – через 2 часа после предыдущего проводится «вторая проба»: лаз засыпался стружкой так, чтобы вход в укрытие был не виден. 5-й этап – тестирование проводилось через двое суток как повторение 4-го этапа. Тест считался выполненным, если животное проникало в укрытие в течение 5 мин. Основными параметрами являются латентный период захода в укрытие и число зашедших животных (в процентном отношении от общего числа крыс в каждой группе).

Полученные данные обрабатывали в программе Statistica 12, используя однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующими апостериорными сравнениями по критерию Фишера. Статистически

значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Введение STZ в латеральные желудочки мозга крыс привело к нарушению поведения экспериментальных животных в условиях когнитивной методики «Пазл-бокс». Это выразилось в увеличении латентного периода (ЛП) подкопа и захода в укрытие у всех STZ крыс на всех этапах тестирования. На рис.1 представлен ход экспериментов, полученные результаты, а также динамика обучения крыс. Видно, что величина ЛП у контрольных животных и животных STZ группы значительно отличается на всех этапах тестирования.

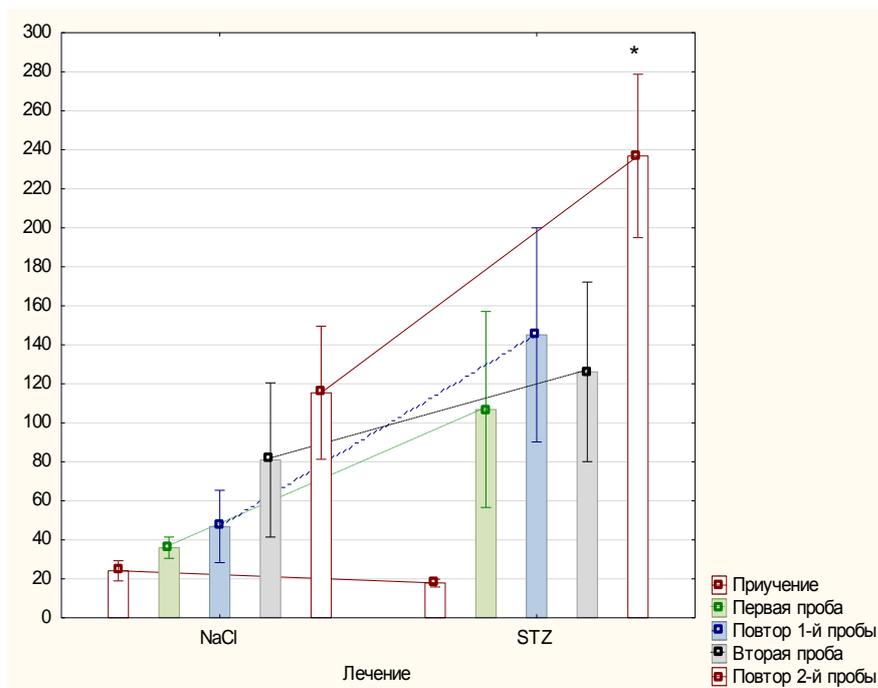


Рис.1 Изменение латентного периода захода крыс в укрытие в процессе тестирования. По оси ординат: латентный период захода крысы в укрытие (сек); \* - статистически значимы различия между группами,  $p=0,044$

Число животных правильно решивших задачу (в процентном отношении) в обеих группах также значительно отличалось (Рис.2). В группе STZ количество таких животных при предъявлении «первой пробы» составило 71,43%, а на последнем, сложном этапе,- около 28%. В контрольной группе все животные решили задачу на начальном этапе (100%), а на последующих этапах число крыс, правильно решавших задачу, снизилось примерно на 15%.

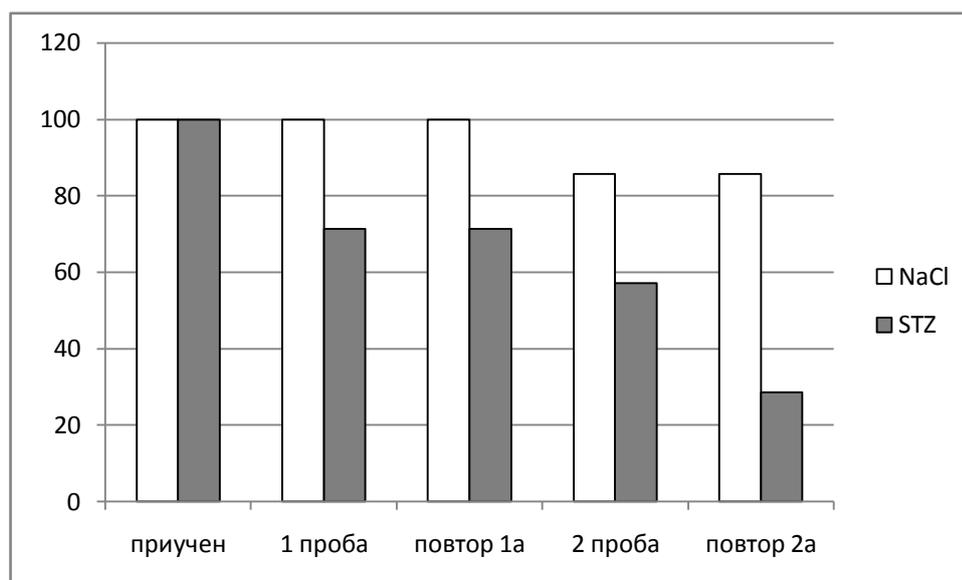


Рис.2. Динамика процесса обучения.

По оси абсцисс: предъявление проб в процессе тестирования в течение 4-х экспериментальных дней; по оси ординат: процент крыс правильно решивших задачу.

В процессе тестирования 1-я и 2-я пробы являются новыми по сравнению с предыдущими и представляют собой усложнённый вариант задачи. Повтор этих проб на последующих этапах является ещё более сложным для крыс, поскольку требует воспроизведения памятного следа и включения процесса обучения.

Таким образом, в группе STZ отчётливо видно нарушение процессов воспроизведения

(памятного следа) при повторе 2-й пробы т.е. при более сложных вариантах задачи. Способность к воспроизведению у животных опытной группы была нарушена больше, о чём свидетельствует время захода в укрытие. Так, судя по этому показателю, контрольные крысы справлялись с задачей в течение 3-х минут, тогда как крысы STZ группы либо использовали все время теста, либо вообще не заходили в темный отсек в течение 5 минут.

### Обсуждение

Известно, что в мозге больных БА снижен метаболизм глюкозы. Стрептозоцин по своей структуре сходен с молекулой глюкозы, и его однократное введение в желудочки мозга крыс вызывает не только снижение метаболизма глюкозы, но и приводит к холинергическому дефициту, образованию амилоидных бляшек и накоплению нейрофибрилл [14, 10], гибели нейронов и клеток микроглии [15], нарушению сигнального пути нейротрофических факторов [13], развитию оксидативного стресса [9]. Всё это сопровождается нарушением памяти и когнитивных функций [16]. Сообщается, что введение стрептозоцина в желудочки мозга вызывало у крыс глубокие нарушения обучаемости и долговременной памяти при отставленном тестировании, а также приводило к снижению латентного периода захода в темный отсек (УРПИ), что свидетельствует об амнестическом эффекте этого токсина у крыс [2, 3].

В данной работе для исследования когнитивных функций и памяти у животных со стрептозоцин-индуцированной деменцией по Альцгеймеровскому типу была применена методика «Пазл-бокс». Притом, что существуют различные методы выявления дефицита когнитивных функций, при всей их

полезности, зачастую они весьма трудоемки и сопровождаются паническими реакциями, связанными с погружением в воду или болевым шоком, лишением пищи и т.п. Методика «Пазл-бокс» не подразумевает аверсивных событий, не требует длительного обучения экспериментальных животных и позволяет провести тестирование в течение 5 дней. Коротко говоря, мышей либо крыс помещают в ярко освещенный отсек установки, где у них быстро развивается предпочтение меньшего темного отсека. Затем животным предъявляют естественные навигационные задачи увеличивающейся сложности, в ответ на которые они вынуждены демонстрировать различные формы поведения. Хотя тест довольно простой, он позволяет оценить исполнительное поведение, поскольку здесь требуется перевод целенаправленного намерения в двигательное поведение возрастающей сложности [4]. Важно, что этот тест позволяет имитировать подобные процессы трансляции у людей.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о нарушении процессов памяти у крыс группы STZ при усложнении задачи от начального этапа тестирования к заключительному. Латентный период (время поиска укрытия и осуществление подкопа) у таких

крыс был значительно больше, чем у контрольных животных на протяжении всего тестирования, а на последнем этапе большинство из них вообще не справилось с задачей. Анализ показателей при первом предъявлении более сложного варианта задачи (1-ая проба и 2-я проба), а также при усложнении задачи, при повторах 1-й и 2-й пробы, показал, что контрольные крысы значительно успешнее, чем в группе STZ.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о выявлении дефицита когнитивных функций, в частности, памяти и процесса обучения, у крыс со стрептозоциновой моделью БА по сравнению с контрольными крысами.

### Заключение.

Результаты проведённого исследования показали, что введение стрептозоцина в боковые желудочки мозга крыс приводит к формированию экспериментальной модели БА. Тестирование таких крыс в условиях методики «Пазл-бокс» выявило нарушение процессов памяти и соответственно способности к обучению, а также, в определённой степени, привело к ослаблению видоспецифического поведения крыс.

### Литература

1. Дамулин И.В. Болезнь Альцгеймера и сосудистая деменция/ под ред. Н.Н. Яхно. М., 2002.
2. Е.В.Стельмашук, А.В.Ставровская, Н.Г.Ямщикова, А.С.Ольшанский, Н.А.Капай, О.В.Попова, Л.Г.Хаспеков, В.Г.Скребицкий, Н.К.Исаев. Митохондриально-адресованное производное пластохинона антиоксидант SkQR1 оказывает положительное влияние на память крыс Биохимия, 2015; 80(5):702-706
3. Р.У. Островская, А.П.Цаплина, Ю.В. Вахитова, М.Х. Салимгареева, Р.С. Ямиданов Эффективность ноотропного и нейропротективного дипептида ноопепт на стрептозоциновой модели болезни Альцгеймера у крыс Экспер. и клин. фармакол. 2010;73(1):2-6
4. Abdallah N., Fuss J., Trusel M., Galsworthy M., Bobsin K., Colacicco G., Deacon R., Riva M., Kellendonk Ch., Sprengel R., Lipp H.-P., Gass P. The puzzle box as a simple and efficient behavioral test for exploring impairments of general cognition and executive functions in mouse models of schizophrenia Experimental neurology 2011;227:42-52
5. Colacicco, G., Welzl, H., Lipp, H.P., Wurbel, H., Attentional set-shifting in mice: modification of a rat paradigm, and evidence for strain-dependent variation. Behav. Brain Res. 2002; 132: 95–102
6. Crinella F., Yu J. Brain Mechanisms in Problem Solving and Intelligence: A Replication and

- Extension Intelligence 1995;21: 225-246
- 7 Galsworthy M.J., Paya-Cano J.L., Monleon S., Plomin R. Evidence for general cognitive ability (g) in heterogeneous stock mice and an analysis of potential confounds. *Genes, Brain and Behav.*, 2002; 1(1):88-95.
- 8 Galsworthy M.J., Paya-Cano J., Liu L., Monleon S., Gregoryan G., Fernandes C., Schalkwyk L., Plomin R. Assessing Reliability, Heritability and General Cognitive Ability in a Battery of Cognitive Tasks for Laboratory Mice *Behavior Genetics*, 2005; 35(5): 675-692 DOI: 10.1007/s10519-005-3423-9
- 9 Garner J.P., Thogerson C.M., Wurbel H., Murray J.D., Mench J.A., Animal neuropsychology: validation of the Intra-Dimensional Extra-Dimensional set shifting task for mice. *Behav. Brain Res.* 2006; 173: 53–61.
- 10 Lester-Coll N., Rivera E.J., Soscia S.J., Doiron K., Wands J.R., de la Monte S.M., Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2006; 9:13-33.
- 11 Paxinos G., Watson Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates 4th edition. Acafemic Press, 1998.
- 12 Robbins T.W. The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 163: 362–380.
- 13 Salkovic-Petrisic, M., Hoyer, S. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: an experimental approach. *J Neural Transm Suppl* 2007:217-233.
- 14 Sharma, J.C., Cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease: donepezil or rivastigmine? *Int J Clin Pract*, 2002; 56:414-415.
- 15 Shoham S., Bejar C., Kovalev E., Weinstock M., Intracerebroventricular injection of streptozotocin causes neurotoxicity to myelin that contributes to spatial memory deficits in rats. *Exp Neurol* 2003; 184(2):1043-1052.
- 16 Sonkusare S., Srinivasan K., Kaul C., Ramarao P., Effect of donepezil and lercanidipine on memory impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Life Sci.* 2005; 77(1): 1-14.