<https://doi.org/10.32863/1682-7392-2019-3-67-140-142>

ВЫЯВЛЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Ставровская А.В., Олышанский А.С., Ямщикова Н.Г., Воронков Д.Н.

Научный центр неврологии, Москва

Введение. К нейродегенеративным заболеваниям, имеющим огромную социальную значимость в силу своего широкого распространения, относится болезнь Альцгеймера (БА), которая развивается преимущественно в пожилом возрасте и приводит к прогрессирующему снижению интеллекта, нарушениям памяти и изменениям личности [7]. Наиболее характерным патоморфологическим признаком БА является накопление бета-амилоида (Аβ) во внутриклеточных нейрофибриллярных клубках и внеклеточных бляшках в мозге у больных. В последние годы в многочисленных исследованиях получили развитие гипотезы о роли Аβ, тау-белка [4, 5] и инфекционного поражения в происхождении и развитии БА [9].

Помимо психопатологической симптоматики при БА описан широкий спектр неврологических симптомов, в том числе двигательные расстройства: паркинсонизм, нарушения ходьбы, пирамидный синдром и др. [2]. Уточнение их характера и представленность на разных стадиях БА, особенно на стадии умеренной и тяжелой деменции, может иметь значение для улучшения диагностики этого заболевания.

Необходимость изучения причин возникновения, развития и способов лечения нейродегенеративных заболеваний и, в частности, БА, диктует совершенствование экспериментальных моделей на животных. Такие модели должны имитировать как можно больше патологических процессов, т.к. они должны быть полезными как для более ясного и детального понимания комплексных биохимических изменений в мозге при БА, так и в трансляционных исследованиях для выбора экспериментальной терапии. Идея использования стрептозоцина (STZ) – вещества, повреждающего бета-клетки поджелудочной железы – для моделирования БА возникла на основании представлений о спорадической БА как о заболевании, этиологически сходном с сахарным диабетом («диабет 3-го типа») [8]. Модель, индуцированная интрацеребровентрикулярным (icv) введением STZ, имитирует спорадическую форму БА и весьма сходна с ее развитием по стадиям у пациентов, что, по-видимому, менее четко видно на трансгенных моделях.

Цель данной работы – выявление двигательных нарушений у крыс на разных сроках после icv введения STZ.

Материалы и методы. Моделирование БА проводилось на крысах линии Wistar в возрасте 3-4 месяца (n=18). Для получения модели БА крысам (n=9) билатерально во время стереотаксических операций вводили STZ в 0,9 % растворе NaCl в дозе 3 мг/кг по 5 µl в каждый боковой желудочек мозга. Для стереотаксического введения использовали следующие координаты: AP=-0,8; L=1,5; V=3,5. Контрольным крысам (n=9) вводили физиологический раствор в том же объеме. Через 2, 4 и 9 недель после введения определяли изменения двигательной активности и пространственной памяти животных с помощью тестов «открытое поле» (ОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) (только через 4 и 9 недель). Установка «открытое поле» представляла собой короб 75×75×35 см, где регистрировали расстояние, пройденное экспериментальным животным за 3 минуты; в ПКЛ («Открытая наука», Россия) крысу помещали на конце одного из открытых рукавов лабиринта, головой от центральной площадки. Регистрировали время, затраченное животным для перехода с конца открытого рукава в закрытый рукав (латентный период, ЛП) [6].

Фиксирование и анализ поведенческих экспериментов проводили с помощью системы видео наблюдения за поведением животных Any-maze.

По окончании эксперимента было проведено стандартное морфохимическое исследование мозга экспериментальных крыс.

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. Тестирования в ПКЛ показали, что у крыс контрольной группы ЛП перехода в закрытый рукав в первый день 1-го и 2-го тестирований не различался, однако во второй день 1-го тестирования ЛП значительно снижался, а во 2-й день при 2-м тестировании динамики изменения ЛП не было. У животных с введением STZ ЛП был значительно выше, чем у контрольных крыс, во все дни тестирования; внутри группы этот показатель не различался между первым и вторым днем (таб. 1).

Исследование в ОП показало, что к 9-й неделе эксперимента двигательная активность крыс с STZ-моделью БА драматично снизилась, тогда как ложнооперированные животные продолжали демонстрировать достаточно высокий уровень локомоции (таб. 2).

Ниже приведены примеры характерных треков в ОП для одного и того же животного (рис. 1).

Таблица 1.

Латентный период (с) перехода в закрытый рукав ПКЛ у ложнооперированных крыс (NaCl) и крыс с STZ-моделью БА (STZ).

	4 недели		9 недель	
	1-й день	2-й день	1-й день	2-й день
NaCl	45,75±6,13	25,41±4,24*	58,25±14,13	81,08±18,51
STZ	102,72±19,71 [#]	76,36±22,95 [#]	140,09±17,45 [#]	135,81±19,11 [#]

Примечание: различия значимы: * – по сравнению с первым днем, # – между группами при $p \leq 0,05$. Данные приведены в виде $m \pm \text{sem}$.

Таблица 2.

Длина пробега (м) в ОП ложнооперированных крыс (NaCl) и крыс с STZ-моделью БА (STZ).

	2 недели	4 недели	9 недель
NaCl	12,30±0,66	11,12±1,39	7,10±0,72*
STZ	9,93±1,51 [#]	9,87±1,40	1,70±0,12* [#]

Примечание: обозначения – как в таб.1.

Рис. 1. Характерные треки в ОП ложнооперированных (А) и животных с STZ-моделью (Б) через 4 и 9 недель после введения STZ (слева направо).

Действие STZ на структуры мозга было верифицировано в последующем морфохимическом исследовании (рис. 2). Были выявлены увеличение просвета желудочков, дегенерация белого вещества (см. рис. 2), а также снижение плотности и размеров нейронов и активация глии в поле СА3 гиппокампа.

Обсуждение. Нарушения при БА затрагивают память, способность воспринимать окружающее, ориентирование в пространстве, времени и собственной личности и др. В течении заболевания традиционно выделяют 3 основные стадии: инициальную, стадии умеренной и тяжелой деменций. На стадии клинически выраженных проявлений болезни (стадия умеренной деменции) преобладают признаки синдрома нарушений высших корковых функций. На этом этапе появляются различные неврологические симптомы, в том числе паркинсоноподобные

Рис. 2. Морфологические изменения под действием STZ.

А – контроль, Б – стрептозоцин; увеличение просвета желудочков (отмечено «*») и дегенерация белого вещества (отмечено стрелками), окраска по Клювер-Барреру, ув.об. $\times 0,75$.

расстройства (акинетико-ригидный, амиостатический синдром). Несмотря на то, что неврологическая симптоматика при БА хорошо описана, проблема неврологических нарушений при БА нуждается в дополнительном исследовании, поскольку в последние годы взгляды на этиологию, патогенез БА и систематизацию двигательных нарушений изменились. Кроме того, изменились и представления о диагностических критериях и фенотипических градациях БА [2], и здесь детальное изучение двигательных нарушений может иметь значение для улучшения диагностики этого заболевания [1].

Воспроизведение с той или иной степенью точности нарушений, выявленных у пациентов с БА, на моделях является основополагающим условием для установления механизмов развития патологических процессов в мозге и разработки новых методов диагностики и лечения. Очевидно, что с объективной точки зрения получение «идеальной» модели какого-либо заболевания на отличном от человека объекте практически невозможно; тем не менее, STZ-индуцированная модель воспроизводит основные клинические и патологические особенности, характерные для БА. 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, что свидетельствует об амнестическом эффекте этого токсина у крыс [3].

В данном исследовании получены новые данные, свидетельствующие о развитии двигательных нарушений, которые имитируют таковые на клинических стадиях БА. Это открывает новые перспективы исследования возможностей коррекции полученных неврологических и поведенческих проявлений, что, в свою очередь, поможет ускорению трансляции результатов фундаментальных и экспериментальных исследований в клиническую практику.

Литература

1. Жданеева, Л.В. Двигательные расстройства при болезни Альцгеймера // Психиатрия. – 2010. – № 5. – С. 44–51.
2. Левин, О.С., Неврологические нарушения при болезни Альцгеймера / О.С. Левин, С.И. Гаврилова, Жданеева Л.В. // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2010. – № 7. – С. 4–8.
3. Островская, Р.У. Эффективность ноотропного и нейропротективного дипептида ноопепт на стрептозоциновой модели болезни Альцгеймера у крыс / Р.У. Островская, А.П.Цаплина, Ю.В. Вахитова, М.Х. Салимгареева, Р.С. Ямиданов // Экспер. клин. фармакол. – 2010. – Т.73, №1. – С. 2–6.
4. Demetrius, L. Alzheimer's disease: the amyloid hypothesis and the inverse Warburg test / Demetrius L., Magistretti P., Pellerin L. // Front. Physiol. – 2015. – №5. – P. 2–20.
5. Iqbal, K. Animal models of the sporadic form of Alzheimer's disease: focus on the disease and not just the lesions / Iqbal K., Bolognin S., Wang X., Basurto-Islas G., Blanchard J., Tung Y. // J. Alzheimer's dis. – 2013. – №37. – P. 469–474.
6. Javed, H., Rutin prevents cognitive impairments by ameliorating oxidative stress and neuroinflammation in rat model of sporadic dementia of Alzheimer type / H. Javed, M.M. Khan, A. Ahmad, K. Vaibhav. // Neuroscience. – 2012. – Vol.210, №3. – P. 340–352.
7. Jellinger, K.F. Alzheimer disease and cerebrovascular pathology: an update // J. Neural Transm. 2002. – Vol.109, iss.5–6. – P.813–836.
8. Lester-Coll, N., Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease / Lester-Coll, N., Rivera, E.J., Soscia, S.J., Doiron, K., Wands, J.R., de la Monte, S.M. // J. Alzheimers Dis. – 2006. – №9. – P. 13–33.
9. Potempa, J. Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors / Jan Potempa, Mike Dragunow, Maurice A. Curtis, Richard L. M. Faull, Eric C. Reynolds // Sci. Adv. — 2019. — Vol. 5, iss. 1. — P. eaau3333.
10. Van Dam, D. Animal models in the drug discovery pipeline for Alzheimer's disease / Van Dam D., De Deyn P.-P. // Br. J. Pharmacol. – 2011. – №164. – P. 1285–1300.