14. Stadtman , E. R. Role of oxidant species in aging. Curr. Med. Chem. 11 – P. 1105-1112.

15. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. Free Radic Biol Med 2000;28:1685- 96.

16. Wolff, S.P., Dean, R.T. Fragmentation of proteins by free radicals and its effect ontheir susceptibility to enzymic hydrolysis. Biochem J. 1986 Mar 1;234(2). – P. 399-403.

УДК 616.893-053.8

А. В. Варданян, Д.С. Саркисян

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА, АМИГДАЛИ И ЯДРА МЕЙНЕРТА НА МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА, ИНДУЦИРОВАННОЙ АВ 25-35

Институт физиологии Национальной академии наук республики Армении им. Л.А. Орбели
Ереван, Республика Армения

A.V.Vardanyan, D.S. Sarkisyan

RESEARCH HIPPOCAMPAL NEURONS, THE AMYGDALA AND THE NUCLEUS MEYNERT MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE, INDUCED AB 25-35

Institute of physiology of National Academy of sciences
Yerevan, Armenia

Контактный e-mail: anahit5551786@mail.ru

Аннотация. В статье рассмотрено исследование относительной степени выраженности постстимульных проявлений активности ряда из ученных структур (в нейронах гиппокампа на высокочастотную стимуляцию ЭК, нейронах Ам и ЯМ на высокочастотную стимуляцию гиппокампа), в условиях более длительных сроков (13-28 нед) выдерживания животных, в сравнении с нормой, что привело к следующему заключению. ТД в подавляющем количестве случаев испытаний оказалась заниженной, а тетаническое возбуждение – во всех случаях, что полагает отсутствие восстановления соотношения возбудительных и депрессорных постстимульных эффектов с удлинением сроков испытаний и свидетельствует о истощении компенсаторных возможностей, обеспечиваемых постстимульными депрессорными эффектами. В ряде случаев отсутствие выраженной депрессии, полагаемой нами в качестве протекторной в настоящем исследовании, создает необходимость привлечения фармакологической интервенции с целью ее усиления, что является предметом последующих сообщений.

Annotation. The article describes a study of the relative severity of the post of stimulus manifestations of the activity of a number of scientists structures (hippocampus neurons at high-frequency stimulation EC, neurons Am and NM neurons at HFS hippocampus), in a more long term (13-28 weeks) keeping animals in comparison with the norm It led to the following conclusion. TD in the overwhelming number of cases the test was low, and tetanic excitation – in all cases, which suggests the absence of recovery ratio of excitatory and depressant effects poststimulus with prolongation of the test and indicates exhaustion of compensatory opportunities offered poststimulus depressant effects. In some cases, the absence of major depression, believe us as sacrificial in the present study, creates the need to involve pharmacological interventions with a view to strengthening that is the subject of follow-up messages.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, гиппокамп, амигдала, я. Мейнерта, одиночная спайковая активность.

Keywords: Alzheimer's disease, the hippocampus, amygdala, nucleus Meynert, a single spike activity.

Представлены доказательства токсического разрушительного воздействия растворимых олигомеров Aβ на межклеточные нейротрансмиттерные сигналы, ведущие к редукции синаптической интеграции [1]. Однако неизвестно инициируют ли они торможение синаптической пластичности, потерю синапсов и гибель нейронов при болезни Альцгеймера (БА). Согласно гипотезе «амилоидного каскада» в гиппокампе (Г) и коре мозга с возрастом, неравномерное распределение продукции и/или очистки Aβ приводит к ее аккумуляции и аггрегации, содействующей нейродегенеративному каскаду с оксидативным стрессом, повреждением и потерей нейронов**.** Показано, что олигомерные и фибриллярные формы Aβ вызывают нарушение длительной потенциации, синаптическую дисфункцию и ускоряют формирование нейро-фибриллярных нитей, что в конечном счете вызывает синаптическую недостаточность и нейрональную гибель. Нейрональные ацетилхолиновые рецепторы широко представлены в нейронах ЯМ, гиппокампе и играют важную роль в нейроглиальных взаимодействиях. Ацетилхолиновые рецепторы - члены суперсемейства пентамерных лигандуправляемых ионных каналов, включающих ГАМК рецепторы. Дискутируется вопрос физиологического антагонизма эффектов Aβ, с уделением особого внимания глутаматэргическим и холинэргическим механизмам генерирования и модулирования синаптической пластичности [2].

Цель исследования – микроэлектофизиологическое изучение механизмов развития синаптических процессов в структурах первичной – до третичной памяти мозга (в нейронах Г, амигдалы и базального ядра Мейнерта, вызванных на актиывцию энторинальной коры (ЭК) и Г, в качестве синаптической потенциации и депрессии, на амилоидной модели БА, индуцированной Aβ 25-35.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на 26 половозрелых крысах-самцах Альбино, массой 200-250 гр., в 2 сериях экспериментов: 1. на интактных (n=10); 2. на модели БА, индуцированной билатеральным ИЦВ Aβ 25-35 (n=16). Проведено изучение активности нейронов Г, Ам и ЯМ на высокочастотную стимуляцию (ВЧС) ЭК и Г. Все эксперименты проводили согласно «правилам ухода за лабораторными животными» (публикации NIH за № 85-23, исправленной в 1985 году). Для создания модели БА билатерально интрацеребровентрикулярно инъицировали токсический олигомер Aβ 25-35 согласно координатам стереотаксического атласа [4] (AP-1, L±1.5, DV+3.5 мм) по 3 мкл 10^{-9} М фрагментов Aβ 25-35 (1 мг/мл при t 37°C, агрегированного в течение 4 дней) и выдерживали до острого эксперимента 12-28 нед. Операции проводили под пентобарбиталовым наркозом (40 мг/кг, в/б), операционное поле обрабатывали 0,1 % Бицилином. В остром опыте животных дополнительно обездвиживали 1% дитиллином (25 мг/кг в/б) и переводили на искусственное дыхание. После краниотомии, стереотаксически ориентированный раздражающий электрод вживляли в ипсилатеральную ЭК (AP-1, L±3.5, DV+4.0 мм) и Г (AP-3,5, L±2.0, DV+4.0 мм), а стеклянный отводящий микроэлектрод с диаметром кончика 1 мкм, заполненный 2М раствором NaCl, погружали в Г (AP-3.5, L±2.0, D+4.0 мм), Ам – Rostral amygdalopiriform area (AP-3.24, L±5.4-5.8, DV+9.5-10.2 мм) и ЯМ (AP-1.8, L ± 3.0, DV+7.4 мм). В целом, была зарегистрирована активность 876 нейронов: из Г (236), Ам (382) и ЯМ (258). ВЧС (100 Гц в течение 1 сек) ЭК и CA1 Г осуществляли посредством прямоугольных толчков тока длительностью 0,05 мс и силой 0.10–0.16 и 0.16–0.18 мА. Проводили программный математический анализ одиночной спайковой активности нейронов Г (88), Ам (89), ЯМ (90) в норме и на модели БА нейронов Г (205), Ам (293), ЯМ (178). On-line регистрацию производили на основе программы, обеспечивающей селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации, с последующим выводом «растеров» пре- и постстимульного спайкинга от множества нейронов, а также диаграмм усредненной частоты спайков (разработчик В.С. Каменецкий). Импульсный поток после селекции подвергался программному математическому анализу. Для избираемых сравниваемых групп спайкинга нейрональной активности строили суммированные и усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average). Для определения статистической достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула использовался непараметрический критерий проверки однородности двух независимых выборок – двухвыборочный критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney test). Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 20 секундный интервал после действия стимула), использовалась разновидность указанного теста, учитывающая его асимптотическую нормальность – z-тест.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ импульсной активности одиночных нейронов Г, Ам и ЯМ в норме (n=322), на модели БА спустя 12 (n=581) и 13-28 (n=197) нед выявил формирование возбудительных и депрессорных ответов в нейронах Г и Ам на ВЧС ЭК, нейронов Ам и ЯМ на ВЧС Г, в виде тетанической потенциации (ТП) и депрессии (ТД), с последующими посттетаническими смешанными одно- и разнонаправленными проявлениями активности в виде ПТП и ПТД, исчисляемых на основе усредненного количества спайков (PETH) с пересчетом в межимпульсные интервалы и частоты в Гц (Frequency Average). Модели БА к 12 нед, после введения Aβ 25-35, в сравнении с нормой, представлены гистограммы суммы спайков и диаграммыусредненной частоты спайков пре- и постстимульных проявлений активности изученныхструктур в р еальномвремени 20 сек (до и после стимуляции), построенные на основе растеров пре– и постстимульных депрессорных и возбудительных проявлений спайковой активности, с указанием средних цифровых значений, включая время ВЧС. При этом виде анализа можно судить о относительной выраженности в патологии, по сравнению с нормой вышеотмеченных одно- и разнонаправленных постстимульных тетанических и посттетанических проявлений активности указанных структур, в частотном выражении, по отношению к престимульному уровню. Для окончательного заключения, на основе соответствующих подсчетов по степени относительной выраженности значений занижения и завышения частоты тетанической депрессии и возбуждения в разнонаправленных постстимульных депрессорных и возбудительных проявлениях в вышеотмеченный срок испытаний в патологии, в сравнении с нормой, составлены дисковые диаграммы, в которых они наглядно представлены для всех вышеприведенных случаев. С учетом состояния проблемы в аспекте механизмов развития амилоидной модели БА, в частности, индуцированной Aβ 25-35 и перспектив терапии, согласно достижениям последних лет, признано, что поскольку БА возникает задолго до клинической манифестации, полагается ответственность компенсаторных механизмов за сдерживание БА. Так, активация компенсаторных механизмов не только способна сдерживать развитие патологического процесса, но может быть использована для профилактики и лечения БА. Компенсаторные механизмы включают повышение активности и гиперперфузию пораженных структур мозга, образование антител к β-амилоиду, синтез нейропротекторных белков, активацию систем антиоксидантной защиты и проонкогенов, тормозящих нейрональный апоптоз, индукцию нейрогенеза, спраутирование терминалей нейронов, увеличение «плотности» рецепторов к нейромедиаторам. Даже процесс образования бляшек может носить компенсаторную функцию, поскольку снижает уровень наиболее токсичных протофибрилл Aβ. Однако, с возникновением клинических признаков компенсаторные механизмы, как правило, истощены. В частности, снижение ингибиции в Г крыс могло быть следствием селективной потери ГАМК-эргических нейронов или снижения выраженности ГАМК(А) рецепторов**.** Тетаническое возбуждение изменялось в

следующих соотношениях. Мощное тетаническое возбуждение имело место в нейронах Г и Ам на активацию ЭК (особенно в возбудительной последовательности), значительное - в нейронах Ам на ВЧС Г и самое мощное на ВЧС ЭК в возбудительно–депрессорной последоватеьности. Наоборот, самое слабое возбуждение выявлялось в нейронах ЯМ на ВЧС ЭК и относительно слабое – на ВЧС Г в обеих последовательностях. Наконец, в почти равном соотношении обнаруживалось возбуждение в нейронах Ам на ВЧС Г в возбудительной последовательности и нейронах Г на ВЧС ЭК – в возбудительно-депрессорной (рис.1).

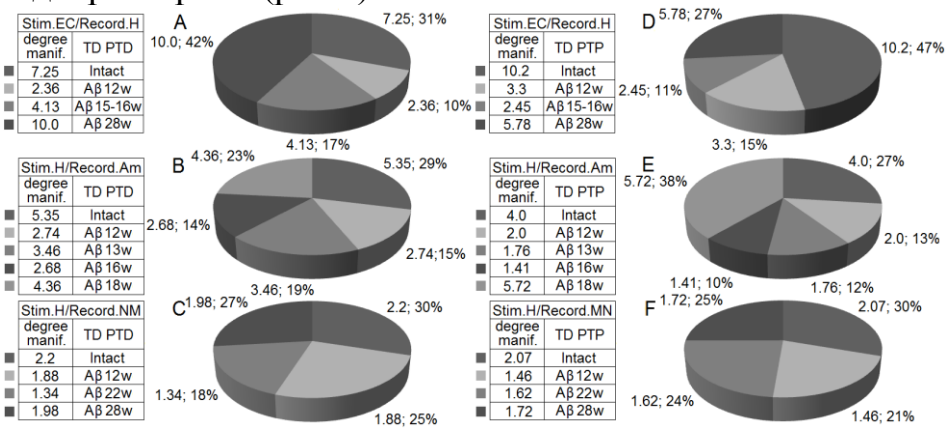

Рис. 1. Процентное соотношение степени выраженности (по усредненной частоте депрессорных (A-E) и депрессорно-возбудительных (F-J) эффектов в одиночных нейронах Н на ВЧС ЕС (A, D), Am (B, E) и NM (C, F) на ВЧС Н 12-28 нед спустя после введения Aβ 25-35, в сравнении с нормой. Остальные обозначения в рисунке.

Выводы

Показаны нарушения коммуникационных связей различных нейротрансмиттерных систем, в частности, между глутамат- и ГАМК-ергической системами. Углубление депрессорных тетанических реакций, по-видимому, является следствием выдвижения их в качестве несущих протекторную нагрузку в начальной стадии развития болезни. Согласно собственным данным, депрессорные реакции интенсивнее вовлекаются как при неспецифической (периферической, центральной) так и специфической нейродегенерации в различных отделах мозгах [4]. В настоящей работе, где помимо Г впервые исследованы Ам и ЯМ на модели БА также не исключено вовлечение истинного ГАМК-ергического торможения в течение тетанической депрессии, с целью ее углубления в изученных структурах, естественно полагается необходимость терапевтического воздействия протекторов в процессе де- и регенерации. В подтверждение, современные изучения на клеточном и сетевом уровнях доказывают, что синаптическое торможение не может оцениваться лишь в качестве противостоящего синаптическому возбуждению и дополнительно обслуживает высоко специфические функции в нервной системе млекопитающих [5].

Литература:

1. Lacor, P. N., Buniel, M. C., Furlow, P. W. et al. Abeta oligomer-induced aberrations in synapse composition, shape, and density provide a molecular basis for loss of connectivity in Alzheimer's disease. Journal of Neuroscience. – 2007. – Vol. 27. – P. 796-807.

2. Ondrejcak T., Klyubin I., Hu N-W, Barry A. E., Cullen W. K., Rowan M. J. Alzheimer’s Disease Amyloid b-Protein and Synaptic Function. Neuromolecular Med. – 2010. – V. 12, № 1. – P. 13-26.

3. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed. – 2005. – 367 p.

4. Galoyan A.A., Khalaj N., Hambardzumyan L.E, Manukyan L.P., Meliksetyan I.B., Chavushyan V.A., Sarkisian V.H., Sarkissian J.S. Protective effects of hypothalamic proline-rich peptide and cobra venom Naja Naja Oxiana on dynamics of vestibular compensation following unilateral labyrinthectomy. Neurochem. Res. – 2010. – Vol. 35. – P. 1747-1760.

5. Birke G., Draguhn A. No Simple Brake – the Complex Functions of Inhibitory // Pharmacopsychiatry. – 2010. – Vol. 43. – S1 21-31.

УДК 577.16

О.В. Гилёва, А.П. Кузнецова, Е.А. Кавкайкина, Л.А. Каминская

ОЦЕНКА ВОСТРЕБОВАННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК В ЕКАТЕРИНБУРГЕ

Кафедра биохимии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

O.V. Gilyova, A.P. Kuznetsova, E.A. Kavkaykina, L.A. Kaminskaia

ESTIMATION OF DEMAND FOR BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES IN EKATERINBURG

Department of biochemistry
Ural state medical university
Ekaterinburg, Russian Federation

Контактный e-mail: gilewa.olya@yandex.ru, annie.smith635@gmail.com

Аннотация. В статье были рассмотрены отчёты о продажах биологически активных добавок и витаминов в период с июня 2015 года по октябрь 2015 года в сети аптек «Планета здоровья» города Екатеринбурга. Составлены графики спроса на различные торговые наименования. Составлен обзор состава наиболее популярных препаратов Доппельгерц. Рассмотрено действие отдельных компонентов лекарственных средств на организм. Составлены схемы биохимического действия растительных веществ и витаминов, входящих в состав препаратов Доппельгерц.