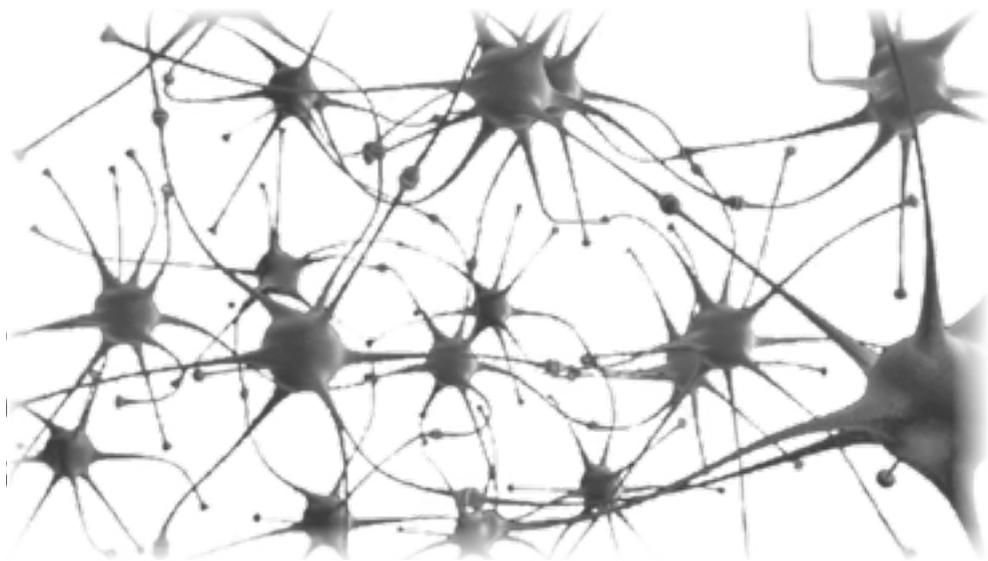


Федеральное медико-биологическое агентство
Академия постдипломного образования ФГБУ
«Федеральный научно-клинический центр специализированных видов
медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России»
Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии

**Н. С. ЛИТЬКОВА, И. М. КВЕТНОЙ, Р. С. УМНОВ,
В. А. ЗУЕВ, Т. В. КВЕТНАЯ, В. Х. ХАВИНСОН**

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ



**Санкт-Петербург
2020**

Молекулярная диагностика болезни Альцгеймера : учебное пособие / Н. С. Линькова, И. М. Кветной, Р. С. Умнов [и др.] ; Федеральное медико-биологическое агентство, Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», АНО НИЦ «Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии». – Санкт-Петербург : Русская коллекция, 2020. – 46, [2] с. : ил.

В конце кн. авт.: Линькова Н. С. – доц., д-р. биол. наук, Кветной И. М., проф., засл. деятель науки РФ, д-р мед. наук, Умнов Р. С., канд. мед. наук [и др.] . – Библиогр. в конце кн. (11 назв.).
И. Линькова, Наталья Сергеевна

В учебном пособии болезнь Альцгеймера (БА) рассматривается как социально значимое заболевание, характерное для лиц старших возрастных групп, доля которых в развитых странах мира неуклонно увеличивается. В пособии подробно охарактеризованы стадии и диагностика БА, основные современные гипотезы патогенеза этого заболевания. Обосновано, для чего необходим поиск молекулярных методов ранней прижизненной диагностики БА. С позиции нейроиммуноэндокринологии описан алгоритм разработанной авторами концепции диагностики БА с использованием периферических тканей (буккальный эпителий и фибробласты кожи). В заключении учебного пособия приводятся рекомендации по применению методов ранней прижизненной диагностики БА у пациентов пожилого и старческого возраста. Учебное пособие может быть рекомендовано врачам-неврологам, гериатрам и молекулярным биологам.

Рецензенты:

Прощаев Кирилл Иванович — профессор, доктор медицинских наук, профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Рыжак Галина Анатольевна — заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор медицинских наук, заместитель директора Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии по научной работе и новым технологиям.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-54-06012 Аз_а

Утверждено

проректором по научной работе Академии постдипломного образования
ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, проф., д.м.н. Олесовой В. Н.

и одобрено решением Ученого совета Академии постдипломного образования ФГБУ
ФНКЦ ФМБА России, протокол № 2-20 от 22 мая 2020 г.,

Ученым советом Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии,
протокол №10 от 24 декабря 2019 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	4
Введение. Болезнь Альцгеймера — социальная значимость и необходимость прижизненной диагностики	5
Стадии болезни Альцгеймера.	7
Диагностика болезни Альцгеймера	9
Молекулярно-клеточные механизмы болезни Альцгеймера	11
Современные подходы к лечению болезни Альцгеймера	21
Методология исследования экспрессии сигнальных молекул в гиппокампе и периферических тканях «в норме» и у пациентов с болезнью Альцгеймера пожилого и старческого возраста	22
Экспрессия сигнальных молекул в гиппокампе лиц пожилого и старческого возраста «в норме» и при болезни Альцгеймера	26
Экспрессия сигнальных молекул в буккальном эпителии лиц пожилого и старческого возраста «в норме» и при болезни Альцгеймера	30
Экспрессия сигнальных молекул в фибробластах кожи лиц пожилого и старческого возраста «в норме» и при болезни Альцгеймера.	34
Заключение.	38
Контрольный тест.	40
Рекомендуемая литература	46

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БА	Болезнь Альцгеймера
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
КТ	компьютерная томография
МКБ	международная классификация болезней
МРТ	магнитно-резонансная томография
нБА	наследственная форма болезни Альцгеймера
ОЭКТ	однофотонная эмиссионная компьютерная томография
ПЭТ	позитронно-эмиссионная томография
сБА	спорадическая форма болезни Альцгеймера
СМЖ	спинномозговая жидкость
у.е.	условные единицы
ЭР	эндоплазматический ретикулум
A β	β -амилоид
ApoE	аполипопротеин E
APP	белок-предшественник амилоида, amyloid precursor protein
GS	глутамин синтаза, glutamine syntetase
IGF1	инсулиноподобный фактор роста 1, insulin-like growth factor 1
IL	интерлейкин, interleukin
LTP	долговременная потенция, long-term potentiation
ММП	матриксные металлопротеиназы, matrix metalloproteinases
MMSE	краткая шкала оценки психического статуса, Mini-mental State Examination
NEP	неприлизин
NMDA	N-метил-D-аспартат
PBS	Фосфатно-солевой буфер
Pi-B	Pittsburg compound B
PSEN	пресенилин
TNF- α	фактор некроза опухоли, tumor necrosis factor

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера — социальная значимость и необходимость прижизненной диагностики

Болезнь Альцгеймера (БА) является нейродегенеративным заболеванием, развивающимся преимущественно у людей пожилого и старческого возраста. Наблюдаемое в последнее десятилетие неуклонное старение населения в развитых странах мира приводит к увеличению частоты возникновения нейродегенеративных заболеваний. В связи с этим БА представляет собой актуальную медико-социальную проблему геронтологии и гериатрии.

Патогенез БА связан с поражением гиппокампа и других областей головного мозга, ответственных за формирование памяти. Двумя основными гистологическими признаками БА являются накопление в головном мозге пациентов сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков. Формирование нейрофибриллярных клубков в основном связано с внутриклеточным накоплением в нейронах гиперфосфорилированного τ -протеина, в то время как сенильные бляшки являются внеклеточными отложениями агрегатов различных бета-амилоидных пептидов (A β). Главенствующей теорией возникновения БА на сегодняшний день является «амилоидная гипотеза», согласно которой повышенная продукция пептида A β длиной в 42 аминокислотных остатка (A β 42) приводит к потере синаптических связей нейронов в гиппокампе, коре и субкортикальных областях головного мозга. Однако ни «амилоидная гипотеза», ни другие теории происхождения БА не дают полного представления о причине этого заболевания.

Применяемая в настоящее время терапия БА наиболее результативна на ранних стадиях развития заболевания. Однако именно на ранней стадии дифференциальная диагностика БА и других деменций затруднительна. Для диагностики БА широко используются критерии NINCDS — ADRDA (the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association), предложенные в 1984 г. В соответствии

с этими критериями для постановки диагноза БА необходимо подтвердить наличие деменции и исключить все иные причины, основываясь на данных анамнеза, результатах психоэмоционального тестирования и лабораторных показателях. Оценка психоэмоционального состояния не решает проблему ранней диагностики, поскольку становится информативной только при развитии выраженной степени когнитивных нарушений. Объективным показателем является гистологическое подтверждение БА методом иммуногистохимии, которое возможно только после смерти пациента. В связи с этим в настоящее время ведется активный поиск периферических тканей (лимфоциты крови, фибробласты кожи, буккальный эпителий, спинномозговая жидкость (СМЖ)), которые могут экспрессировать сигнальные молекулы, верифицируемые в гиппокампе и других отделах головного мозга при БА.

Принимая во внимание растущую распространенность БА, важным направлением исследований представляется нахождение методов ранней диагностики этого нейродегенеративного заболевания. Разработка предиктивных методов диагностики БА позволит своевременно начинать терапию этих заболеваний, что будет способствовать повышению качества жизни пациентов старших возрастных групп.

СТАДИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Развитие БА клинически разделяют на 4 стадии, с прогрессирующей картиной когнитивных и функциональных нарушений: предеменция, ранняя деменция, умеренная деменция и тяжелая деменция.

Предеменция. Первые симптомы БА сходны с проявлениями старения или реакцией на стресс. Ранние когнитивные нарушения выявляются у некоторых людей при детальном нейрокогнитивном тестировании за 8 лет до постановки диагноза. Это может отражаться на выполнении простых повседневных задач. Наиболее заметно расстройство памяти, проявляющееся в затруднении при попытке вспомнить недавно выявленные факты и в неспособности усвоить новую информацию. Симптомами ранних стадий БА также могут быть малозаметные проблемы исполнительных функций: сосредоточенности, планирования и абстрактного мышления либо нарушение семантической памяти. На этой стадии может отмечаться апатия, которая остается самым устойчивым нейропсихиатрическим симптомом на всем протяжении заболевания. Преклиническую стадию БА называют умеренным когнитивным нарушением.

Ранняя деменция. Прогрессирующее снижение памяти и агнозия при БА приводит к подтверждению диагноза. У небольшого числа пациентов при этом на первый план выступают нарушения речи, исполнительных функций и восприятия, двигательные нарушения (апраксия). БА неодинаково отражается на различных аспектах памяти. Старые воспоминания о собственной жизни (эпизодическая память), давно заученные факты (семантическая память), имплицитная память (неосознанная «память тела» о последовательности действий, например о том, как использовать столовые приборы) в меньшей степени подвержены расстройству по сравнению с новыми фактами или воспоминаниями. Афазия в основном характеризуется уменьшением словарного запаса и сниженной беглостью речи, что в целом ослабляет способность к словесному и письменному выражению мыслей. На этой стадии болезни человек обычно способен адекватно оперировать простыми понятиями при речевом общении. При рисовании, письме, надевании одежды и других задачах с использованием тонкой

моторики человек может казаться неловким вследствие проблем с координацией и планированием движений. По мере развития БА пациент зачастую способен выполнять многие задачи независимо, однако ему может потребоваться помощь или присмотр при попытке провести манипуляции, требующие повышенных когнитивных усилий.

Умеренная деменция. При дальнейшем развитии БА способность к независимым действиям снижается вследствие прогрессирующего ухудшения состояния. Расстройства речи становятся более заметными, так как с потерей доступа к словарному запасу человек все чаще подбирает неверные слова на замену забытым (парафразия). Наблюдается потеря навыков чтения и письма. Со временем все более нарушается координация при выполнении сложных последовательностей движений, что снижает способность человека справляться с большинством повседневных задач. На этом этапе усиливаются проблемы с памятью, больной может не узнавать близких родственников. На этой стадии БА долговременная память также нарушается и отклонения в поведении становятся более заметными. Обычными являются такие нейропсихиатрические проявления, как бродяжничество, вечернее обострение (sundowning), раздражительность и эмоциональная лабильность, проявляющаяся в плаче, спонтанной агрессии, в сопротивлении помощи и уходу. Синдром ложной идентификации и другие симптомы бреда развиваются примерно у 30% пациентов.

Тяжелая деменция. На последней стадии БА пациент полностью зависит от посторонней помощи. Владение языком сокращается до использования единичных фраз и даже отдельных слов. Несмотря на утрату вербальных навыков, пациенты часто способны понимать и отвечать взаимностью на эмоциональные обращения к ним. Хотя на этой стадии еще могут встречаться проявления агрессии, гораздо чаще состояние больного характеризуется апатией и истощением. Пациент не в состоянии осуществить даже самое простое действие без чужой помощи. Больной теряет мышечную массу, передвигается с трудом и оказывается не в силах покинуть кровать, а затем и самостоятельно питаться. Смерть обычно наступает вследствие стороннего фактора, такого как пролежневая язва или пневмония, а не по причине БА.

ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Клинический диагноз БА основан на анамнезе жизни, наследственности пациента и данных клинических наблюдений. При этом учитываются характерные неврологические и нейропсихологические признаки и исключаются альтернативные диагнозы. Для того чтобы отличить БА от других типов деменции, могут быть использованы различные методы нейровизуализации — компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОЭКТ) или позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ).

Для постановки клинического диагноза БА требуется подтвердить наличие когнитивных нарушений и предположительного синдрома деменции в ходе нейропсихологического тестирования. Для диагностики БА используют нейропсихологические скрининг-тестирования, такие как краткая шкала оценки психического статуса (Mini-mental State Examination, MMSE), когнитивная шкала оценки болезни Альцгеймера (cognitive Alzheimer's Disease Assessment Scale, ADAS-Cog), шкала рейтинга клинической деменции (Clinical Dementia Rating scale, CDR). При постановке диагноза БА проводят беседу с членами семьи, поскольку родственники могут предоставить важную информацию об уровне повседневной активности человека и о постепенном снижении его мыслительных способностей. В то же время во многих случаях ранние симптомы БА остаются незамеченными в семье, и врач получает от родственников неточную информацию.

Методы ОЭКТ и ПЭТ могут быть использованы для подтверждения диагноза БА совместно с другими методами оценки, включающими анализ ментального статуса. У людей, страдающих от деменции, ОЭКТ позволяет дифференцировать БА от других нейродегенеративных заболеваний. Возможность прижизненно наблюдать отложения А β в головном мозге появилась благодаря созданию в Питтсбургском университете специфического производного тиофлавина — PiB, связывающегося с амилоидными отложениями при введении в организм. Короткоживущий радиоактивный изотоп C-11 в составе PiB позволяет определять распределение этого вещества в организме и полу-

чать картину амилоидных отложений в мозге больного с помощью ПЭТ-сканера. Схожий подход был разработан и для идентификации гиперфосфорелированного τ -протеина у пациентов с БА.

Маркером БА может служить содержание $A\beta$, τ -протеина и других сигнальных молекул в плазме крови и СМЖ. Эти методики в настоящее время лежат в основе критериев ранней диагностики БА.

Перспективным и многообещающим методом диагностики является изучение экспрессии τ -протеина, $A\beta$, гена белка аполипопротеина Е (ApoE), провоспалительных цитокинов (интерлейкин (IL) — 6, IL-10, интерферон- γ , гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, фактор некроза опухоли- α (TNF- α)) у пациентов с БА в лимфоцитах крови, тучных клетках и фибробластах кожи, в буккальном эпителии. Верификация ключевых белков, участвующих в патогенезе БА — τ -протеина и $A\beta$ в периферических тканях, открывает новые перспективы в персонализированной диагностике БА. Кроме того, оценка уровня экспрессии протеинкиназы С, белка-предшественника амилоида (amyloid precursor protein, APP) и генотипа ApoE позволяет прогнозировать сроки манифестации спорадической и наследственной форм БА и оценивать эффективность проводимого лечения.

МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТочНЫЕ МЕХАНИЗМЫ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Гены, вовлеченные в патогенез болезни Альцгеймера

БА характеризуется триадой нейроморфофизиологических признаков, в которую входят наличие амилоидных бляшек (сенильных бляшек), спутанность нейрофибрилл и обширная деструкция нервной ткани в гиппокампе и коре головного мозга. Эти изменения связаны с деменцией и характерными когнитивными нарушениями.

Большинство случаев БА носят спорадический характер и выявляются в преклонном возрасте (от 65 лет), но в 1–2% процентах верифицируется наследственная форма БА (нБА). Первые признаки нБА проявляются в возрасте 40–50 лет. В большинстве случаев это ауто-сомно-доминантные наследованные мутации в трех генах, которые в настоящее время считаются ассоциированными с БА. Эти гены кодируют белок APP (16% нБА), пресенилин-1 (PSEN1) (30–70% нБА) и пресенилин-2 (PSEN2) (менее 5% нБА).

Точные физиологические функции APP и $A\beta$ в организме остаются невыясненными, однако предполагается, что APP играет важную роль в нейрогенезе. В частности, нокаутные по APP мыши демонстрировали функциональные нарушения, связанные с изменениями в кальциевом сигналинге, синаптической пластичности и/или формировании нейронной сети. Белок APP подвергается расщеплению протеазами, которые называются α -, β - и γ -секретазами. β -секретаза расщепляет в N-концевой домен, формируя фрагмент $A\beta$, состоящий из 99 аминокислот, который затем расщепляется с помощью γ -секретазы, создающей внеклеточный фрагмент амилоидного белка $A\beta$ и внутриклеточный домен APP. При расщеплении APP β - и γ -секретазами происходит формирование $A\beta$ — пептида длиной 39–42 аминокислотных остатка. Схема, иллюстрирующая процессинг $A\beta$, представлена на рисунке 1.

Большинство мутаций в белке APP, приводящих к развитию нБА, сосредоточены непосредственно в зонах, где APP «разрезается» β - и γ -секретазами. Считается, что эти мутации стимулируют протеолитическое расщепление APP, приводя к избыточному продуцированию $A\beta$.

Мутации в генах PSEN1 и PSEN2 увеличивают его производство при помощи γ -секретазы. Это обусловлено тем, что β -секретазы работает «неточно», разрезая трансмембранный домен APP. Установлено, что белки PSEN1, PSEN2 входят в состав протеазного комплекса γ -секретазы и являются ключевыми каталитическими субъединицами. Мутации в PSEN, обнаруженные при нБА, также приводят к усиленному расщеплению APP и, как следствие, к повышенному продуцированию А β .

Ген ApoE является важнейшим генетическим фактором риска развития спорадической формы БА (сБА). ApoE является протеином плазмы крови, участвующим в транспорте холестерина, продуктом одноименного гена в 19-й хромосоме. ApoE в основном продуцируется астроцитами и микроглией в мозге, участвует в транспортировке метаболитов холестерина и триглицеридов, вовлечен в рост и восстановление клеток нервной системы. Изоформы ApoE2, ApoE3, ApoE4 были идентифицированы и ранжированы по вкладу в развитие БА: ApoE3 (77–78%) > ApoE4 (14–16%) > ApoE2 (7–8%). Ген ApoE существует в виде трех различных аллелей у людей (ϵ 2, ϵ 3 и ϵ 4). ϵ 4 аллель ApoE признается в качестве основного фактора риска для сБА, увеличивая риск развития БА в 3 раза у гетерозигот и в 15 раз у гомозигот.

Анализ ApoE-аллелей у пациентов с БА и контрольных субъектов продемонстрировал связь ApoE-аллеля 4 типа (ApoE ϵ 4) и сБА с поздним началом. Тот же характер связи с аллелем ϵ 4 был продемонстрирован при аутопсийном исследовании у пациентов с БА. Повышенная частота аллеля ϵ 4 при сБА с поздним началом была продемонстрирована в американской, финской, японской и итальянской популяциях.

Наследование аллеля ϵ 4 ApoE связано с более ранним началом заболевания: средний возраст во время начала заболевания снизился с 83 до 78 и до 74 лет по мере того, как число аллелей ApoE ϵ 4 увеличивалось от 0 до 2. Это открытие послужило основой гипотезы о том, что ϵ 4 ApoE является фактором риска развития БА и предполагает потенциальное использование ApoE-генотипа в качестве диагностического теста, несмотря на то что частота аллеля ϵ 4 ApoE повышена не только при БА, но и при других типах деменций. Показано, что частота аллеля ϵ 4 ApoE повышается у пациентов с болезнью Крейтцфельда-Якоби и деменцией Леви. Таким образом, связь аллеля ϵ 4 ApoE с БА не уникальна.

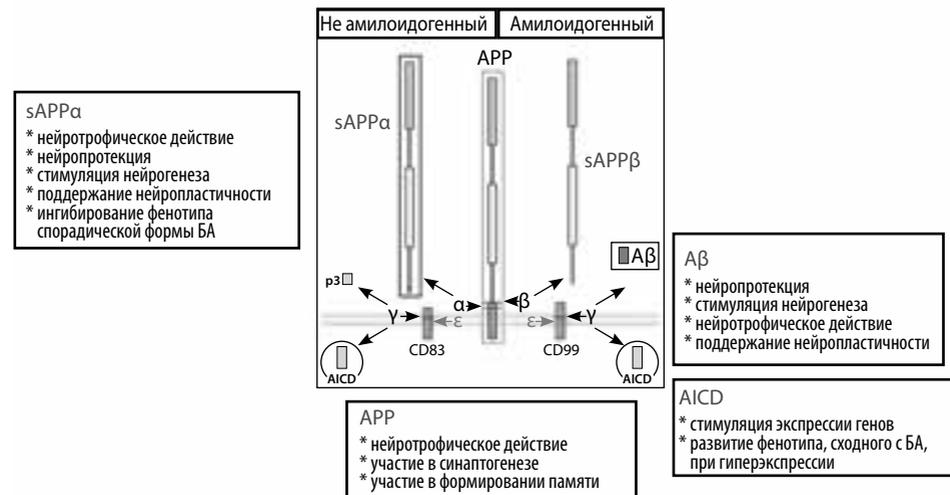


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая процессинг β -амилоида [Morris G. P., Clark I. A., Vissel B. Inconsistencies and controversies surrounding the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease // Acta Neuropathol. Commun. 2014. Vol. 2. №135. P. 1–21].

Пояснение к рисунку. Предшественник амилоидного пептида (APP) может быть вовлечен в два сигнальных каскада — амилоидогенный и не амилоидогенный. При этом амилоидный пептид может быть вовлечен в физиологические пути реализации функций головного мозга, как показано в прямоугольных блоках на схеме. В патогенезе БА участвуют β -секретазы и γ -секретазы, расщепляющие APP. β -секретазы способствуют образованию предшественника амилоидного пептида sAPP β . γ - и ϵ -секретазы участвуют в образовании внутриклеточного домена (AICD, APP intracellular domain), который расщепляется до A β 43, A β 42, A β 40 и A β 38.

Использование ApoE генотипа в качестве диагностического теста у лиц без симптомов БА имеет недостаточную эпидемиологическую поддержку, чтобы использоваться в настоящее время. Нельзя предсказать, когда носитель аллеля ϵ 3\4 ApoE заболит БА и заболит ли вообще. С другой стороны, генотип может использоваться для подтверждения того, что пациент с ранней деменцией страдает от БА. ApoE-генотипирование может также быть использовано для подразделения симптоматических пациентов по степени риска, чтобы предсказать ответ на медикаментозную терапию и клиническое прогрессирование пато-

логии, так как пропорция пациентов с медленным прогрессированием БА возрастает с увеличением количества генов $\epsilon 4$ ApoE. Однако в спорадических случаях его распространенность составляет только 10–20%.

В дополнение к ApoE были идентифицированы десятки других факторов генетического риска развития сБА. Крупномасштабный мета-анализ, проведенный при помощи полногеномного поиска ассоциаций, связанных с поиском корреляции между геномными вариантами и фенотипическими признаками, показал еще 22 генетических локуса, ассоциированных с нБА.

Роль токсичных олигомеров β -амилоида в патогенезе болезни Альцгеймера

Внеклеточный амилоидный белок размером 40 аминокислот — наиболее распространенная форма данного белка, составляющего до 90% в здоровом мозге и до 40% — в мозге людей с БА. Мутации в гене APP способствуют накоплению A β 42, который является наиболее склонным к агрегации. Скопление A β 42 приводит к формированию амилоидных олигомеров, которые, в свою очередь, агрегируют и принимают участие в формировании сенильных бляшек. Установлено, что у людей с БА начинает преобладать внеклеточный амилоидный белок размером 42 аминокислоты, который считается наиболее токсичным.

Позже было выяснено, что A β способен самопроизвольно агрегировать и существует в мозге больного в форме мономеров, олигомеров и фибрилл. Именно фибриллы A β составляют основу сенильных бляшек. Описанные выше данные послужили основой для формирования «амилоидной гипотезы» БА, которая утверждает, что накопление отложений A β в головном мозге является причиной развития БА. Амилоидная гипотеза не могла объяснить тот факт, что количество и размер сенильных бляшек в мозге больного БА не коррелирует со степенью когнитивных нарушений. Также некоторые люди без симптомов БА имеют обширные отложения A β , в то время как некоторые пациенты с нБА не имеют сенильных бляшек. Установлено, что степень когнитивных нарушений при БА коррелирует с количеством A β , верифицированным биохимическим методом, но не с количеством A β определенным гистологически. При иммуногистохимическом

анализе растворимые формы A β остаются невидимыми. Возможно, именно олигомеры, а не сенильные бляшки являются наиболее токсичными для нейронов и вызывают патологические изменения при БА. Открытия в этой области привели к реновации «амилоидной гипотезы», которая называется гипотезой «токсичных олигомеров». В новом варианте амилоидной гипотезы утверждается, что накопление токсичного A β 42, агрегированного в олигомерные формы, приводит к дисфункции и апоптозу нейронов.

Большинство исследований направлено на изучение двух феноменов: накопление A β и формирование нейрофибриллярных клубков. Первый феномен изучается в контексте гипотезы амилоидного каскада, которая основывается на предположении о том, что накопление A β приводит к гибели нейронов, повреждению сосудов, деменции. Повышение соотношения A β 42: A β 40 соответствует степени когнитивных нарушений и тяжести заболевания. Амилоидные олигомеры ухудшают эффект долговременной потенциации (long term potentiation, LTP). LTP — специфическая функция нервной системы, заключающаяся в усилении синаптической передачи между нейронами, сохраняющаяся на протяжении длительного времени после воздействия на синапс. На основании этих данных была предположена гипотеза синаптотоксичности амилоидных олигомеров. Синаптическая дисфункция и, как следствие, потеря памяти на ранней стадии БА может быть частично индуцирована амилоидными олигомерами, которые вызывают нарушение в синаптическом ремоделировании и формировании кратковременной памяти. Связывание амилоидных олигомеров с клеточным прионным белком активизирует нерецепторную тирозинкиназу Fyn, в результате чего происходит нарушение синаптической пластичности. Было показано, что амилоидные олигомеры, выделенные из мозга пациентов с БА, способны вызывать фосфорилирование τ -протеина и нейрофибриллярных клубков. Амилоидные олигомеры вызывают патологические изменения эндоплазматического ретикулума (ЭР). Все это повышает чувствительность нейронов к эксайтотоксичности. Несмотря на то что эти данные поддерживают гипотезу амилоидного каскада, частота их распространенности составляет порядка 1%. Важно также отметить, что данные, подтверждающие гипотезу амилоидного каскада, получены в основном из исследований при моделировании БА у животных.

Активация аутоиммунной реакции против амилоидных олигомеров была предложена в качестве стратегии лечения БА. В результате такого подхода в коре головного мозга снижалось количество амилоидов, но, тем не менее, не наблюдалось ожидаемых улучшений ни в когнитивных функциях, ни в уменьшении гиперфосфорелирования τ -протеина, ни снижения выраженности церебральной ангиопатии, вызванной амилоидами.

Роль τ -протеина в патогенезе болезни Альцгеймера

τ -протеин является белком, ассоциированным с микротрубочками, необходимыми для роста аксонов. В норме τ -протеин взаимодействует с тубулином, облегчает его сборку в микротрубочки, стабилизирует их структуру. У мышей, нокаутных по τ -протеину, выявлена прогрессирующая с возрастом двигательная дисфункция.

Нейрофибрилярные патологии, ассоциированные с τ -протеином, встречаются при развитии более 20 нейродегенеративных заболеваний. Гиперфосфорилированный τ -протеин способен самопроизвольно агрегировать в парные спиральные филаменты, которые формируют нейрофибрилярные клубки. При БА накапливается гиперфосфорилированный τ -протеин, что вызывает его диссоциацию от микротрубочек, их дестабилизацию и приводит к нарушению нейронального транспорта. Количество нейрофибрилярных клубков коррелирует со степенью прогрессирования заболевания, но при этом не соответствуют степени потери нейронов, поскольку потеря памяти и гибель нейронов предшествуют формированию нейрофибрилярных клубков. Олигомеры τ -протеина, а не сенильные бляшки предположительно оказывают цитотоксическое действие на нейроны. Было показано, что нарушение процессов обучения и памяти усиливается с увеличением количества τ -олигомеров при БА. Потеря синапсов и активация микроглии предшествуют формированию нейрофибрилярных клубков, отражая нарушения в аксональном транспорте, которые происходят в результате гиперфосфорилирования τ -протеина.

Предполагается, что в случае с БА τ -ассоциированная патология не считается нижестоящим звеном амилоидного каскада, а развитие БА по гипотезе амилоидного каскада и при τ -патологии идет по двум

независимым путям. Гиперфосфорилирование τ -протеина начинается в стволе головного мозга (в области голубого пятна), затем распространяется в область медиальной височной доли, лимбических структур, ассоциативной и первичной коры. При этом формирование амилоидов начинается с ассоциативной коры, а затем развивается в нижних областях коры, стволе мозга и мозжечке. Несмотря на положительный эффект иммунной терапии, способствовавшей удалению $A\beta$ из мозговых структур, прогрессивное распространение нейрофибрилярных клубков сохраняется и клинического улучшения не наблюдается. Полученные результаты привели к тому, что стратегии развития терапии для БА стали ориентированы в сторону τ -протеина. Активная иммунизация с использованием эпитопов к τ -протеину проводилась у животных с целью замедлить прогрессирование БА. Однако данный подход несет в себе риск развития энцефалита или апоптоза нейронов, поэтому испытания с использованием активной иммунизации временно приостановлены. Результаты испытаний пассивной иммунизации с использованием антител к τ -протеину показали, что патология, связанная с τ -протеином, может быть менее выражена на ранних стадиях развития заболевания.

Роль кальция в патогенезе болезни Альцгеймера

На данный момент существует большое количество свидетельств, указывающих на нарушения в кальциевом сигналинге при БА. При старении наблюдаются изменения в регуляции внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} . Кальциевая гипотеза подтверждается изменениями в молекулярных каскадах, которые регулируют внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} у животных с моделями БА и другими нейродегенеративными заболеваниями. Гипотеза основывается на представлении о том, что снижение умственных способностей происходит вследствие гибели нейронов гиппокампа, что хорошо коррелирует со снижением способности к обучению и функций памяти. Кроме того, показано, что ключевой элемент патологии БА, аккумуляция амилоидного белка, нарушает внутриклеточный кальциевый гомеостаз. Недавние исследования уровня кальция у трансгенных АРР мышей выявило, что у 35% нейронов, расположенных в непосред-

ственной близости амилоидных бляшек, значительно повышена концентрация кальция в цитозоле. Взаимодействие Аβ с плазматической мембраной приводит к повышению концентрации внутриклеточного кальция и повышенной уязвимости нейронов к эксайтотоксичности. Один из механизмов, с помощью которого Аβ может привести к входящему току Ca²⁺, это формирование поры, обладающей проводимостью для Ca²⁺. Нейротоксичные формы Аβ являются олигомерами, которые разделяют структурную и функциональную гомологию с порообразующими бактериальными токсинами. Способность Аβ ассоциироваться с плазматической мембраной и формировать ионные каналы усиливается под воздействием фосфатидилсерина на поверхности клетки. Экспрессия фосфатидилсерина на клеточной поверхности, как правило, указывает на дефицит энергии и апоптоз в клетках. Митохондриальные нарушения при БА могут увеличить уровень фосфатидилсерина на клеточной поверхности в пораженных нейронах и тем самым облегчить формирование Аβ опосредованных пор.

Помимо прямого влияния олигомеров на проницаемость мембраны для ионов кальция, они также влияют на гомеостаз кальция, изменяя активность ионотропных рецепторов глутамата и потенциал-зависимых кальциевых каналов. Помимо вышесказанного, было обнаружено, что многие мутации в пресенилинах, связанные с нБА, приводят к нарушениям в кальциевом гомеостазе. Также было выявлено, что PSEN выполняют функцию ионного канала малой проводимости, через которую происходит пассивный выход ионов кальция из ЭР в цитозоль. Многие мутации в PSEN, связанные с нБА, вызывают потерю PSEN этой функции и, как следствие, повышение концентрации кальция в ЭР. Высокая концентрация кальция в цитоплазме является токсичной для нейрона и вызывает дегенеративные изменения и гибель клетки. Одобренный к использованию при лечении БА Мемантин является ингибитором NMDA-рецепторов и способен снизить концентрацию кальция в цитозоле.

Роль глии в патогенезе болезни Альцгеймера

В последнее время роль глиальных клеток в патогенезе БА привлекает все больший интерес исследователей в связи с ее растущей зна-

чимостью в развитии этой патологии. У взрослого человека в неокортексе отношение глия : нейроны составляет 1,32 для женщин и 1,49 для мужчин. Приблизительно 75% глиальных клеток неокортекса являются олигодендроцитами, 20% — астроцитами и 5% — микроглией. Количество нейронов и олигодендроцитов уменьшается в возрасте от 20 до 90 лет на 10% и 27% соответственно, в то время как количество астроцитов остается постоянным.

Активированная микроглия при БА характеризуется короткими, утолщенными и менее разветвленными отростками, чем в мозге здорового человека. Микроглия оказывает провоспалительное и противовоспалительное влияние. Первое характеризуется секрецией провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF-α), в результате чего происходит нарушение нейрогенеза. Противовоспалительное влияние микроглии включает в себя синтез инсулиноподобного фактора роста первого типа (IGF-1), который стимулирует нейрогенез. Известно также, что IL-1β, секретируемый клетками микроглии, вызывает гиперфосфорилирование τ-белка посредством активации p38-MAPK пути.

Микроглия участвует в фагоцитозе амилоидного белка и индуцированной им воспалительной реакции, играя, таким образом, важную роль в прогрессировании БА. Есть два основных пути, по которым происходит «очистение» мозга от амилоидов. Первый включает рецепторы-скавенджеры, которые экспрессируются в микроглии, и рецепторы системы комплемента — FcRs и TREM2. Второй путь включает деградацию амилоидов при помощи неприлизина (NEP), инсулин-разрушающего фермента, матриксных металлопротеаз (MMP) и катепсина В. Опосредованное микроглией очищение мозга от амилоидов, по-видимому, зависит от возраста и стадии болезни, поскольку амилоиды более эффективно удаляются на ранних стадиях БА. Фагоцитарную активность микроглии ослабляет провоспалительный эффект цитокинов INF-γ, IL-1, TNF-α, которые направляют активность микроглии в сторону провоспалительного фенотипа.

Астроциты регулируют внеклеточную концентрацию ионов, водный гомеостаз и кислотно-щелочной баланс в мозге, являются посредниками в синтезе и обратном захвате или деградации нейротрансмиттеров, влияют на уровень глюкозы крови, принимают участие в антиоксидантной защите, осуществляют синаптическую регуляцию

при помощи цитокинов, хемокинов и факторов роста. Провоспалительные молекулы и цитокины, синтезированные и секретируемые активированными астроцитами, могут привести к дальнейшей активации астроцитов, пролонгируя длительность воспалительных циклов, что может привести к накоплению амилоида путем активации β - и γ -секретаз. Астроциты являются основными клетками, участвующими в обратном захвате глутамата из межклеточного пространства. Астроциты способны сохранить количество внеклеточного глутамата ниже токсичного уровня. Глутамат в астроцитах превращается в глутамин при помощи фермента глутамин-синтазы (GS). Глутамин синтезируется и захватывается обратно после выброса в синаптическую щель нейронами, после чего превращается в глутамат в митохондриях при помощи фермента глутаминазы. $A\beta_{42}$ и окислительный стресс значительно снижают активность GS, в результате чего уровень глутамата увеличивается, что влечет пролонгированную активацию NMDA-рецепторов, что является токсичным для нейронов. Пациенты с БА имеют сниженную активность белков-переносчиков глутамата, ассоциированную с повышением эксайтотоксичности и нейродегенерации.

Несмотря на то что нейроны служат основным источником амилоидов, микроглия и астроциты также продуцируют амилоидные белки, хотя и в меньшей степени. Деградация амилоида осуществляется в основном за счет ферментов NEP и MMP, которые экспрессируются астроцитами.

При накоплении $A\beta$ в микроглии и астроцитах запускается воспалительный ответ и фагоцитоз, направленный на его устранение. При этом воспалительная реакция облегчает синтез амилоидов за счет ингибирования фагоцитарной активности, которая снижается с возрастом или во время поздней стадии БА. Сниженное с возрастом расщепление $A\beta$ и повышенный воспалительный ответ в глиальных клетках являются одним из факторов патогенеза БА. Глия, таким образом, оказывается вовлеченной в сложные метаболические изменения и сигнальные пути при развитии БА. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения причинно-следственной связи глиальных клеток с развитием и патогенезом БА.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

В настоящее время причины возникновения и развития БА остаются невыясненными, поэтому современные методы терапии являются симптоматическими и не способствуют излечению заболевания. В 2008 г. число новых методов терапии БА составляло более 500, однако неясно, будет ли доказана их эффективность в клинических испытаниях.

Для симптоматического лечения БА используют антипсихотические препараты, антидепрессанты и лекарства, восполняющие дефицит нейротрансмиттеров. На основании доминирующей «амилоидной гипотезы» было разработано несколько стратегий, направленных на поиск терапевтических агентов для лечения БА: уменьшение продуцирования $A\beta$, предотвращение агрегации и дестабилизация его олигомеров. Соответственно, основной стратегией при разработке лекарственных средств являлось уменьшение количества образований $A\beta$ в головном мозге. Согласно проведенным исследованиям, из 244 веществ, прошедших клинические испытания с 2002 по 2012 г., только одно было официально одобрено к применению для лечения БА. Это вещество — препарат Мемантин, который является антагонистом NMDA-рецепторов глутамата и оказывает нейропротекторный эффект.

Таким образом, подавляющее число разработок лекарственных препаратов, основанных на «амилоидной гипотезе», окончилось неудачей. Необходимо более детальное изучение физиологической роли APP и $A\beta$, а также поиск новых сигнальных путей, вовлеченных в патогенез БА, и новых потенциальных мишеней терапевтического воздействия.

МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В ГИППОКАМПЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ТКАНЯХ «В НОРМЕ» И У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

В качестве объекта морфофункционального исследования был выбран аутопсийный материал гиппокампа пациентов с БА пожилого (60–74 года, средний возраст $69,3 \pm 3,4$ года) и старческого возраста (75–89 лет, средний возраст $81,2 \pm 2,1$ года) и биопсийный материал буккального эпителия и фибробласты кожи пациентов с БА пожилого (60–74 года, средний возраст $65,8 \pm 2,6$ года) и старческого возраста (75–89 лет, средний возраст $78,2 \pm 2,2$ года).

Все пациенты были разделены на соответствующие возрастные группы согласно с международной классификацией ВОЗ. В качестве контроля изучали аутопсийный и биопсийный материал от пациентов пожилого и старческого возраста без патологии головного мозга (группа «норма»). Причиной смерти всех пациентов группы «норма», у которых исследовали аутопсийный материал, явилась сердечно-сосудистая патология (инфаркт миокарда). Биопсийный материал был получен от добровольцев, не имеющих патологии центральной нервной системы в анамнезе. Пациентам с БА была диагностирована начальная и умеренная степень деменции. Пациентам с БА диагноз был поставлен в соответствии с клиническими проявлениями заболевания, описывающими характерные нарушения координации движений. Пациенты, включенные в исследование, соответствовали международным критериям диагностики БА: МКБ-10 (международная классификация болезней) и NINCDS/ADRDA. Оценка состояния пациентов с БА по шкале MMSE составляла от 17 до 26 баллов. Все клинические данные по пациентам были получены из их историй болезни.

Все пациенты и добровольцы были разделены по возрасту методом рандомизации. Информированное согласие было дано всеми добровольцами, пациентами (или их родственниками) перед каждым исследованием.

Для исследования уровня экспрессии сигнальных молекул — A β 42, τ -протеина, протеинкиназы C, α -синуклеина, p53 и p16 в гиппокампе,

черной субстанции, буккальном эпителии и фибробластах кожи пациенты были разделены на группы, как показано в таблице 1. Для количественной оценки экспрессии сигнальных молекул были выбраны методы иммуногисто- и иммуноцитохимии.

Аутопсийный материал гиппокампа. Кусочки гиппокампа объемом 1 см³ фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, обезвоживали с помощью автоматической станции проводки материала и заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина для последующего иммуногистохимического исследования.

Таблица 1

Схема проведения экспериментов по изучению экспрессии сигнальных молекул «в норме» и при болезни Альцгеймера

Объект исследования	Группы	Количество пациентов
Аутопсийный материал гиппокампа	1) пожилой возраст, «норма» 2) старческий возраст, «норма» 3) пожилой возраст, БА 4) старческий возраст, БА	1) 30 человек (20 женщин, 10 мужчин) 2) 25 человек (16 женщин, 9 мужчин) 3) 36 человек (29 женщин, 7 мужчин) 4) 34 человека (30 женщин, 4 мужчины)
Буккальный эпителий	1) пожилой возраст, «норма» 2) старческий возраст, «норма» 3) пожилой возраст, БА 4) старческий возраст, БА	1) 20 человек (10 женщин, 10 мужчин) 2) 23 человека (15 женщин, 8 мужчин) 3) 40 человек (32 женщины, 8 мужчин) 4) 39 человек (31 женщина, 8 мужчин)
Первичные культуры фибробластов кожи	1) пожилой возраст, женщина 67 лет, «норма» 2) старческий возраст, женщина 78 лет, «норма» 3) пожилой возраст, женщина 65 лет, БА 4) старческий возраст, женщина 76 лет, БА	

Буккальный эпителий. Забор буккального эпителия со слизистой оболочки щеки осуществляли не ранее чем через 4 часа после приема пищи. Цитологические мазки готовили с применением метода жидкостной цитологии.

Культивирование фибробластов кожи. Соскоб эпидермиса производили в трех зонах лица — в лобной и околоушных областях. После получения кожу обрабатывали в стерильных условиях раствором диспазы II, после чего механически отделяли эпидермис от дермы и помещали в раствор коллагеназы I типа в среде M199. Питательная среда состояла из среды M199, 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1% L-глутамин, 1,5% NEPEB-буфера и смеси пенициллина и стрептомицина. Культивирование проводили до третьего пассажа, на котором клетки были рассеяны на планшет, после чего производили иммуноцитохимическое окрашивание. Для пермеабилитации использовали 0,1% Тритон X-100, растворенный в PBS. Затем культуры клеток инкубировали в 1% бычьей сывороточном альбумине в течение 30 минут для блокировки неспецифического связывания. Инкубацию с первичными антителами проводили в течение 60 минут.

Исследование культур фибробластов кожи было проведено у ограниченного числа пациентов ввиду инвазивного характера процедуры забора соскоба кожи. Кроме того, при культивировании фибробластов кожи в течение трех пассажей они теряют свойственную им связь с микроокружением, что позволяет нивелировать возможные индивидуальные особенности фибробластов, присущие каждому испытуемому. От одной пациентки было получено по 24 образца культуры, что дало возможность оценивать экспрессию каждого маркера по 120 микрофотографиям. Таким образом, полученные выборки являются репрезентативными для статистического анализа.

Иммунофлуоресцентную конфокальную микроскопию проводили на клетках буккального эпителия, фибробластах кожи и препаратах гиппокампа. Препараты обрабатывали первичными антителами к пептиду A β 42, τ -протеину, протеинкиназе C, p53, p16, α -синуклеину. Анализ полученных образцов проводили на инвертированном конфокальном микроскопе.

Пептид A β 42 является наиболее токсичным и склонным к агрегации фрагментом β -амилоида APP и накапливается в гиппокампе

и других отделах головного мозга при БА. τ -протеин — белок, ассоциированный с микротрубочками. Гиперфосфорилированная форма τ -протеина склонна к агрегации и накоплению в тканях головного мозга при БА. Протеинкиназа C — фермент, осуществляющий фосфорилирование различных белков-мишеней в клетках и принимающий участие во внутриклеточной передаче сигнала, в том числе в тканях головного мозга. Белки p53, p16 — транскрипционные факторы, регулирующие клеточный цикл и апоптоз, являются маркерами клеточного старения. α -синуклеин — нейрональный белок пресинаптических терминалей.

Для оценки результатов иммуноцит- и иммуногистохимического окрашивания проводили морфометрическое исследование с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа, цифровой камеры, персонального компьютера и программного обеспечения «Videotest Morphology 5.2». В каждом случае анализировали 5 полей зрения. Для маркеров с цитоплазматическим окрашиванием площадь экспрессии рассчитывали как отношение площади окрашенной цитоплазмы к общей площади клеток. Для маркеров с ядерным окрашиванием площадь экспрессии вычисляли как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными ядрами, к общей площади ядер в поле зрения. В условных единицах (у.е.) оценивали оптическую плотность экспрессии, отражающую количество исследуемого маркера, синтезируемого в одной клетке.

Статистическая обработка экспериментальных данных включала в себя подсчет среднего арифметического, стандартного отклонения и доверительного интервала для каждой выборки и проводилась в программе «Statistica 6.0». Для анализа вида распределения использовали критерий Шапиро — Уилка. Для проверки статистической однородности нескольких выборок были использованы непараметрические процедуры однофакторного дисперсионного анализа (критерий Крускала — Уоллиса). В случаях, когда дисперсионный анализ выявлял статистически значимую неоднородность нескольких выборок, для последующего выявления неоднородных групп (путем их попарных сравнений) применяли процедуры множественных сравнений с помощью U критерия Манна — Уитни. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии различий) принимали равным 0,05.

Таблица 2

Площадь экспрессии сигнальных молекул в гиппокампе
«в норме» и при болезни Альцгеймера

Маркер	Площадь экспрессии, %			
	Пожилой возраст		Старческий возраст	
	«норма»	БА	«норма»	БА
Aβ42	0,10±0,02	16,46±0,23*	0,12±0,03	20,14±0,31**
τ-протеин	0,14±0,02	9,22±0,18*	0,22±0,03#	17,98±0,34**
PKC	4,37±0,20	0,59±0,07*	3,17±0,14#	0,19±0,04**
p53	1,20±0,06	7,99±0,32*	1,16±0,09	23,14±0,25**
p16	1,45±0,11	18,75±0,25*	2,74±0,16#	23,29±0,27**
α-синуклеин	0,12±0,02	0,98±0,15*	0,15±0,03	1,38±0,21** #

* — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей пожилого возраста.

** — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей старческого возраста.

— p<0,05 — по сравнению с людьми пожилого возраста с БА.

ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ
В ГИППОКАМПЕ ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО
ВОЗРАСТА «В НОРМЕ» И ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Экспрессия пептида Aβ42. Площадь экспрессии Aβ42 в гиппокампе людей пожилого и старческого возраста «в норме» достоверно не различалась. У пациентов с БА пожилого и старческого возраста площадь экспрессии пептида Aβ42 возрастала на два порядка по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (рис. 2, табл. 2). У людей пожилого и старческого возраста при БА оптическая плотность экспрессии пептида Aβ42 возрастала соответственно в 16,3 и 30,5 раза по сравнению с этим показателем «в норме» (табл. 3).

Экспрессия τ-протеина. У людей старческого возраста «в норме» площадь экспрессии τ-протеина была в 1,6 раза выше, чем этот показатель в пожилом возрасте. У пациентов с БА пожилого и старческого возраста площадь экспрессии τ-протеина повышается в несколько десятков раз по сравнению с этим показателем «в норме» (табл. 2). Оптическая плотность экспрессии τ-протеина у лиц без нейропатологии пожилого и старческого возраста достоверно не различалась. У паци-

Таблица 3

Оптическая плотность экспрессии сигнальных молекул
в гиппокампе «в норме» и при болезни Альцгеймера

Маркер	Оптическая плотность экспрессии, у.е.			
	Пожилой возраст		Старческий возраст	
	«норма»	БА	«норма»	БА
Aβ42	0,03±0,004	0,49±0,07*	0,02±0,004	0,61±0,10**
τ-протеин	0,07±0,005	0,38±0,08*	0,06±0,005	0,45±0,10**
PKC	0,23±0,03	0,05±0,01*	0,25±0,04	0,04±0,01**
p53	0,17±0,03	0,67±0,11*	0,19±0,03	0,95±0,09**
p16	0,23±0,03	0,71±0,13*	0,23±0,03	0,71±0,13*
α-синуклеин	0,05±0,01	0,21±0,04*	0,06±0,01	0,30±0,05**

* — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей пожилого возраста.

** — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей старческого возраста.

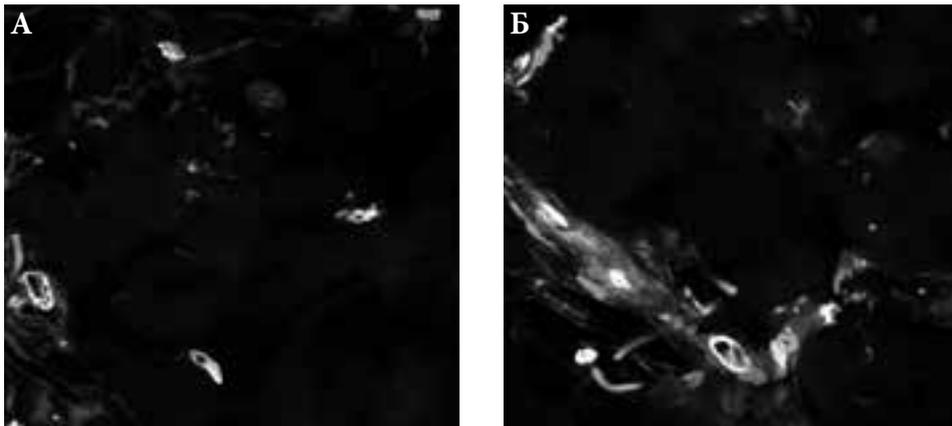


Рис. 2. Иммунофлуоресцентное окрашивание гиппокампа антителами к Aβ42. Конфокальная микроскопия, x100. Aβ42 — Alexa 567 — светло-серые фрагменты. Ядра докрашены Hoesst 33258 — белые фрагменты. А — женщина 64 года, «норма», Б — женщина 66 лет, БА.

ентов с БА пожилого и старческого возраста оптическая плотность экспрессии τ -протеина возрастает соответственно в 5,4 и 7,5 раза.

Экспрессия протеинкиназы С. У лиц без нейропатологии старческого возраста наблюдалось снижение площади экспрессии протеинкиназы С в гиппокампе на 27,5% по сравнению с этим показателем у лиц пожилого возраста. У людей пожилого и старческого возраста с БА площадь экспрессии протеинкиназы С снижалась соответственно в 7,4 и 16,7 раза по сравнению с соответствующим значением «в норме» (табл. 2). Оптическая плотность экспрессии протеинкиназы С в гиппокампе людей пожилого и старческого возраста «в норме» не изменялась.

Оптическая плотность экспрессии протеинкиназы С снижалась при БА у лиц пожилого возраста в 4,6 раза и у лиц старческого возраста — в 6,3 раза (табл. 3).

Экспрессия белка p53. Площадь и оптическая плотность экспрессии p53 в гиппокампе людей пожилого и старческого возраста «в норме» не изменялась. При БА площадь экспрессии белка p53 у людей пожилого возраста увеличивалась в 6,7 раза, а у людей старческого возраста — в 19,9 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 2). При БА оптическая плотность экспрессии p53 у лиц пожилого и старческого возраста по сравнению с соответствующим показателем «в норме» повышалась соответственно в 3,9 и 5 раз (табл. 3).

Экспрессия белка p16. Площадь экспрессии p16 «в норме» у людей старческого возраста была почти в 2 раза выше по сравнению с этим показателем у лиц пожилого возраста. У пациентов с БА пожилого возраста площадь экспрессии транскрипционного фактора p16 возрастала в 13 раз, а у лиц старческого возраста с БА — в 8,5 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 2). При исследовании оптической плотности экспрессии белка p16 в гиппокампе у людей пожилого и старческого возраста у лиц без нейропатологии возрастная динамика не прослеживалась. При БА этот показатель у лиц пожилого и старческого возраста увеличивался в 3 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 3).

Экспрессия α -синуклеина. Площадь и оптическая плотность экспрессии α -синуклеина в гиппокампе людей пожилого и старческо-

го возраста «в норме» не различалась. У пациентов с БА пожилого и старческого возраста площадь экспрессии α -синуклеина в гиппокампе увеличивалась более чем в 10 раз по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 2). У людей пожилого возраста с БА оптическая плотность экспрессии α -синуклеина возрастала в 4 раза, у пациентов старческого возраста с БА — в 5 раз по сравнению с этим показателем у лиц без нейропатологии (табл. 3).

ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА «В НОРМЕ» И ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Экспрессия пептида A β 42. У людей пожилого и старческого возраста «в норме» экспрессия пептида A β 42 достоверно не различалась (табл. 4). При БА у людей пожилого возраста площадь экспрессии пептида A β 42 повышалась в 14,6 раза, а у людей старческого возраста — в 33 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 5). Оптическая плотность экспрессии пептида A β 42 в буккальном эпителии «в норме» с возрастом не изменялась. При БА у людей пожилого возраста данный параметр повышается в 16 раз, а у людей старческого возраста с БА — в 21 раз по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 5). При анализе экспрессии пептида A β 42 в буккальном эпителии «в норме» и при БА были получены данные, согласующиеся с экспрессией этого маркера в гиппокампе.

Экспрессия τ -протеина. У лиц без нейропатологии пожилого и старческого возраста экспрессия τ -протеина не различалась. При БА у людей пожилого возраста площадь экспрессии τ -протеина возрастала в 5,6 раза, а у людей старческого возраста — в 5,2 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (рис. 3, табл. 4). Оптическая плотность экспрессии τ -протеина в буккальном эпителии повышалась при БА в 4,5 раза у людей пожилого возраста и в 5,5 раза — у лиц старческого возраста. Оптическая плотность экспрессии τ -протеина достоверно не различалась у лиц пожилого и старческого возраста без нейропатологии (табл. 5). Данные об экспрессии τ -протеина в буккальном эпителии являются полученными впервые, так как в литературе описания подобных исследований мы не обнаружили.

Экспрессия протеинкиназы С. «В норме» и при БА площадь экспрессии протеинкиназы С у лиц пожилого и старческого возраста не изменялась. У пациентов пожилого и старческого возраста с БА площадь экспрессии протеинкиназы С снижалась соответственно в 7,8 и 8,2 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 4). Наблюдается снижение в 4,8 раза оптической плотности

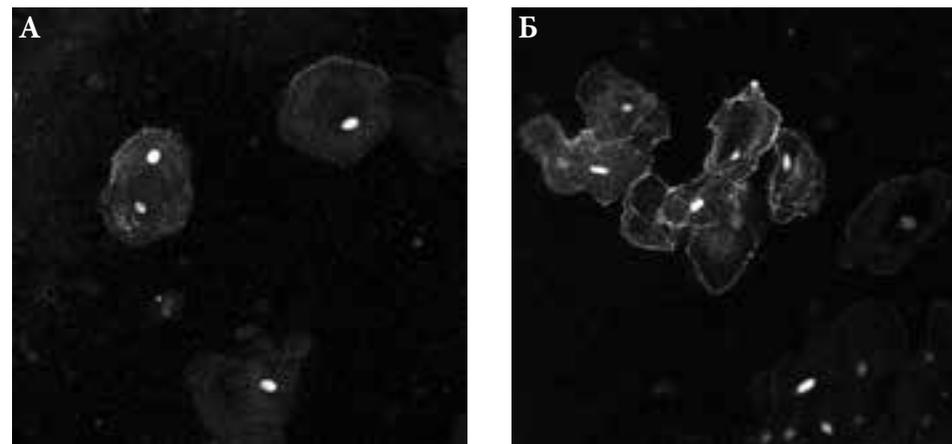


Рис. 3. Иммунофлуоресцентное окрашивание буккального эпителия антителами к τ -протеину. Конфокальная микроскопия, $\times 200$. τ -протеин — Alexa 567 — серые фрагменты. Ядра докрашены Hoechst 33258 — белые фрагменты. А — женщина 78 лет, «норма», Б — женщина 65 лет, БА.

экспрессии протеинкиназы С у людей пожилого возраста с БА и в 3,3 раза — у людей старческого возраста с БА (табл. 5) по сравнению с соответствующим показателем «в норме». В одном из исследований была показана прямая корреляция между изменением экспрессии данного белка в эритроцитах крови и гиппокампе пациентов с БА. Полученные нами данные о снижении уровня протеинкиназы С при БА в гиппокампе и буккальном эпителии подтверждают гипотезу о том, что протеинкиназу С можно рассматривать в качестве потенциально го маркера для прижизненной диагностики БА.

Экспрессия белка p53. «В норме» у лиц старческого возраста площадь экспрессии белка p53 возрастала на 24% по сравнению с этим показателем у лиц пожилого возраста. У пожилых людей с БА площадь экспрессии p53 возрастала в 2,6 раза, а у людей старческого возраста с БА — в 2,2 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 4). При анализе оптической плотности экспрессии сигнальной молекулы p53 в буккальном эпителии людей пожилого и старческого возраста статистически значимых различий между группами «норма» и «БА» выявлено не было (табл. 5). У пациентов

с начальной стадией БА выявлено наличие повреждений ДНК в клетках буккального эпителия, что согласуется с полученными нами данными и дополняет их.

Экспрессия белка p16. «В норме» у лиц старческого возраста площадь экспрессии p16 была 2 раза выше по сравнению с этим показателем у лиц пожилого возраста (табл. 5). При БА площадь экспрессии p16 у пожилых людей возрастала в 10 раз, а у лиц старческого возраста — в 6 раз по сравнению с соответствующим значением «в норме» (табл. 5). При БА наблюдается увеличение оптической плотности экспрессии p16: в 2,8 раза — у лиц пожилого возраста и в 2 раза — у людей старческого возраста по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 6). Эти данные согласуются с результатами, полученными в ходе анализа экспрессии p16 в клетках гиппокампа.

Таблица 4

Площадь экспрессии сигнальных молекул в буккальном эпителии «в норме» и при болезни Альцгеймера

Маркер	Площадь экспрессии, %			
	Пожилой возраст		Старческий возраст	
	«норма»	БА	«норма»	БА
Aβ42	0,15±0,03	2,2±0,08*	0,13±0,04	4,3±0,11**
τ-протеин	0,05±0,01	0,28±0,04*	0,05±0,01	0,26±0,05**
PKC	0,47±0,09	0,06±0,02*	0,49±0,09	0,06±0,015**
p53	0,54±0,06	1,43±0,11*	0,71±0,06#	1,58±0,16**
p16	0,39±0,05	3,97±0,34*	0,87±0,10#	5,19±0,32**
α-синуклеин	0,08±0,02	0,70±0,11*	0,10±0,02	0,85±0,13**

* — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей пожилого возраста.

** — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей старческого возраста.

— p<0,05 по сравнению с людьми пожилого возраста с БА.

Экспрессия α-синуклеина. Площадь и оптическая плотность экспрессии α-синуклеина в буккальном эпителии людей пожилого и старческого возраста без нейропатологии достоверно не различалась. У пациентов с БА пожилого и старческого возраста площадь и оптическая плотность экспрессии α-синуклеина в буккальном эпителии возрастала в 2–9 раз (табл. 5, 6).

Таблица 5

Оптическая плотность экспрессии сигнальных молекул в буккальном эпителии «в норме» и при болезни Альцгеймера

Маркер	Оптическая плотность экспрессии, у.е.			
	Пожилой возраст		Старческий возраст	
	«норма»	БА	«норма»	БА
Aβ42	0,03±0,01	0,48±0,08*	0,03±0,01	0,63±0,15**
τ-протеин	0,04±0,01	0,18±0,03*	0,04±0,01	0,22±0,04**
PKC	0,29±0,05	0,06±0,02*	0,23±0,06	0,07±0,02**
p53	0,51±0,12	0,52±0,11	0,53±0,23	0,58±0,09
p16	0,36±0,09	0,99±0,14*	0,41±0,11	0,80±0,13**
α-синуклеин	0,15±0,04	0,31±0,09*	0,17±0,04	0,31±0,11**

* — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей пожилого возраста.

** — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей старческого возраста.

ЭКСПРЕССИЯ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ В ФИБРОБЛАСТАХ КОЖИ ЛИЦ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА «В НОРМЕ» И ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Экспрессия пептида Аβ42. «В норме» у людей пожилого и старческого возраста в фибробластах кожи пептид Аβ42 практически не экспрессировался (табл. 6, 7). У людей с БА пожилого возраста площадь экспрессии пептида Аβ42 в фибробластах кожи возрастала в 4 раза, а у лиц старческого возраста с БА — в 3,3 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме» (табл. 6). При БА у людей пожилого и старческого возраста оптическая плотность экспрессии пептида Аβ42 увеличивалась в 10 раз по сравнению с соответствующим значением «в норме» (табл. 8).

Экспрессия τ-протеина. Площадь экспрессии τ-протеина в фибробластах кожи статистически значимо не различалась ни между группами «норма» и «БА», ни между возрастными группами (табл. 6). Оптическая плотность экспрессии τ-протеина в фибробластах кожи повышалась у пациентов с БА по сравнению с этим показателем у лиц без нейропатологии: в 17 раз у людей пожилого возраста и в 16 раз — у лиц старческого возраста (табл. 7).

Экспрессия протеинкиназы С. Площадь и оптическая плотность экспрессии протеинкиназы С в фибробластах кожи у людей пожилого и старческого возраста не изменялась ни «в норме», ни при БА (табл. 6, 7). В 2015 г. в журнале «Journal of Alzheimer disease» была опубликована статья Khan Т.К., et al., 2015, в которой продемонстрировано снижение количества ε-изоформы протеинкиназы С в фибробластах кожи и в гиппокампе пациентов с БА. В нашем исследовании взаимосвязь между снижением экспрессии протеинкиназы С в гиппокампе и ее количеством в фибробластах кожи не прослеживалась. Вероятно, изученная в статье зарубежных коллег изоформа протеинкиназы С более специфична для фибробластов и снижение экспрессии именно этой изоформы белка наблюдается при БА в данном типе клеток. Этим можно объяснить разницу в полученных результатах. Возможно, также, что при культивировании фибробласты кожи из-

Таблица 6

Площадь экспрессии сигнальных молекул в фибробластах кожи «в норме» и при болезни Альцгеймера

Маркер	Площадь экспрессии, %			
	Пожилой возраст		Старческий возраст	
	«норма»	БА	«норма»	БА
Аβ42	0,03±0,005	0,12±0,03*	0,03±0,005	0,10±0,03**
τ-протеин	0,05±0,01	0,07 ±0,02	0,04±0,01	0,09±0,03
PKC	0,3±0,06	0,22±0,06	0,31±0,09	0,19±0,06
p53	0,41±0,12	2,13±0,21	0,50±0,07	2,78±0,22
p16	0,64±0,10	2,94±0,12*	0,85±0,15	3,14±0,19**
α-синуклеин	0,06±0,01	0,10±0,03	0,05±0,01	0,09±0,02

* — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей пожилого возраста.

** — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей старческого возраста.

Таблица 7

Оптическая плотность экспрессии сигнальных молекул в фибробластах кожи «в норме» и при болезни Альцгеймера

Маркер	Оптическая плотность экспрессии, у.е.			
	Пожилой возраст		Старческий возраст	
	«норма»	БА	«норма»	БА
Аβ42	0,03±0,005	0,30±0,06	0,03±0,005	0,33±0,07
τ-протеин	0,035±0,01	0,6±0,02*	0,04±0,005	0,65±0,02**
PKC	0,26±0,08	0,17±0,05	0,22±0,09	0,15±0,03
p53	0,35±0,15	0,65±0,16*	0,40±0,10	0,88±0,12**
p16	0,20±0,04	0,76±0,12*	0,47±0,11	0,95±0,10**
α-синуклеин	0,10±0,02	0,11±0,03	0,11±0,02	0,12±0,04

* — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей пожилого возраста.

** — p<0,05 — по сравнению «с нормой» у людей старческого возраста.

меняли свои свойства, что сказалось на экспрессии различных форм протеинкиназы С.

Экспрессия белка p53. У людей пожилого и старческого возраста «в норме» площадь экспрессии белка p53 достоверно не изменялась. При БА площадь экспрессии p53 возрастала в 5,2 раза у пожилых людей, а у людей старческого возраста — в 5,5 раза по сравнению с соответствующим значением «в норме» (табл. 6). Оптическая плотность экспрессии p53 в фибробластах кожи у людей пожилого возраста при БА не изменялась по сравнению с соответствующим показателем «в норме». У людей старческого возраста оптическая плотность экспрессии p53 при БА повышалась в 2,1 раза по сравнению с соответствующим значением «в норме» (табл. 7). Данные об экспрессии белка p53 в фибробластах кожи «в норме» и при БА согласуются с результатами, полученными при анализе экспрессии p53 в клетках гиппокампа, и подтверждают предположение о том, что при БА возрастает количество клеток, вступающих в апоптоз.

Экспрессия белка p16. При БА площадь экспрессии белка p16 в фибробластах у лиц пожилого и старческого возраста повышалась соответственно в 4,9 и 3,7 раза по сравнению с соответствующим значением «в норме» (табл. 6). Оптическая плотность экспрессии p16 в фибробластах кожи при БА повышалась у людей пожилого возраста в 3,8 раза и у лиц старческого возраста — в 2 раза по сравнению с соответствующим показателем «в норме». Увеличение оптической плотности экспрессии p16 в 2 раза с возрастом было установлено только для группы «норма» (табл. 7). Экспрессия маркера клеточного старения p16 в фибробластах кожи лишь частично совпадает с экспрессией данного биомаркера в гиппокампе у людей разного возраста. В частности, наблюдаются различия между группами «норма» и «БА», однако отсутствует возрастная динамика, характерная для данного биомаркера.

Экспрессия α -синуклеина. При исследовании площади и оптической плотности экспрессии α -синуклеина в фибробластах кожи людей пожилого и старческого возраста «в норме» и при БА значимых различий не обнаружено (табл. 6, 7).

Исследование экспрессии сигнальных молекул-маркеров в буккальном эпителии и фибробластах кожи у людей разного возраста

при БА проведено впервые. При этом продемонстрировано, что тенденция экспрессии исследованных маркеров в буккальном эпителии полностью повторяет тенденцию экспрессии в гиппокампе. Наблюдаются значимые различия между экспрессией пептида A β 42, τ -протеина, протеинкиназы С, p53, p16 и α -синуклеина в гиппокампе пациентов с БА и людьми без нейродегенеративных заболеваний пожилого и старческого возраста. В фибробластах кожи аналогичная тенденция сохранялась только для пептида A β 42, белков p53 и p16. Это позволяет сделать вывод об универсальности буккального эпителия как материала для ранней неинвазивной диагностики БА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день в медицине отсутствует простой неинвазивный метод ранней диагностики БА, позволяющий выявить начало развития заболевания до проявления первых симптомов когнитивных нарушений. Поиск нового метода неинвазивной диагностики БА может включать в себя 2 задачи: выявление наиболее информативных сигнальных молекул, вовлеченных в патогенез БА, и поиск легко доступных периферических тканей, которые могли бы использоваться для диагностических тестов.

Необходимость в разработке неинвазивных методов диагностики нейродегенеративных заболеваний может быть достигнута при исследовании клеток буккального эпителия человека в качестве объекта для изучения биомаркеров БА. Существуют данные, согласно которым фибробласты кожи также можно рассматривать как удобный способ прижизненной ранней диагностики БА. Развитие БА сопровождается изменением синтеза сигнальных молекул (пептида А β 42, τ -протеина, α -синуклеина и др.) не только в головном мозге, но и в других тканях — в лимфоцитах крови и СМЖ. Клетки буккального эпителия легко доступны (соскоб со слизистой поверхности щеки) и при использовании метода иммуноцитохимии могут указывать на ускоренное старение организма или возникновение различной соматической патологии. Полученные нами данные демонстрируют увеличение экспрессии маркеров клеточного старения p16 и p53 в клетках гиппокампа, буккального эпителия, фибробластов кожи при БА. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют о повышении экспрессии маркера клеточного старения p53 при БА в головном мозге, что согласуется с полученными нами результатами. Изучение p53 и p16 в периферических тканях проведено впервые. Обнаружено наличие корреляции между экспрессией данных маркеров в головном мозге, буккальном эпителии и фибробластах кожи при БА.

Данные об изменении интенсивности экспрессии ассоциированных с БА сигнальных молекул (пептид А β 42, τ -протеин, протеинкиназа С, α -синуклеин, маркеры клеточного старения и апоптоза p16 и p53) в буккальном эпителии и фибробластах кожи позволяют

сделать вывод о целесообразности использования указанных периферических тканей для ранней диагностики БА. Особенно перспективным в этом плане представляется изучение буккального эпителия, поскольку для проведения диагностических процедур достаточно произвести иммуноцитохимическое окрашивание на указанные сигнальные молекулы — биомаркеры БА без необходимости культивирования клеток. Более этого, в клетках буккального эпителия прослеживалась более сильная корреляция с клетками гиппокампа в динамике экспрессии основных сигнальных молекул БА.

Таким образом, буккальный эпителий представляет собой объект для ранней прижизненной диагностики БА. В качестве молекулярных маркеров диагностики БА в буккальном эпителии можно использовать пептид А β 42, τ -протеин, протеинкиназу С, p16, p53 и α -синуклеин.

КОНТРОЛЬНЫЙ ТЕСТ

1. С какой областью головного мозга преимущественно связан патогенез болезни Альцгеймера?

- А) с гиппокампом
- Б) с черной субстанцией головного мозга
- В) с корковым веществом головного мозга
- Г) с подкорковыми структурами головного мозга
- Д) с базальными ганглиями

2. Для какой стадии болезни Альцгеймера характерна парафразия?

- А) для умеренной деменции
- Б) для ранней деменции
- В) для тяжелой деменции
- Г) для предеменции
- Д) для всех стадий заболевания

3. Какой из указанных методов не позволяет отличить БА от других типов деменции?

- А) компьютерная томография
- Б) магнитно-резонансная томография
- В) однофотонная эмиссионная компьютерная томография
- Г) позитронно-эмиссионная томография
- Д) рентгенограмма

4. Какие ткани не используются для прижизненной диагностики болезни Альцгеймера?

- А) лимфоциты крови
- Б) тучные клетки
- В) фибробласты кожи
- Г) буккальный эпителий
- Д) спленоциты

5. Что позволяет отнести микроглию к одним из факторов, играющих важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера?

- А) микроглия участвует в развитии воспалительных реакций

- Б) микроглия участвует в фагоцитозе амилоидного белка А β 42
- В) микроглия участвует в подавлении воспалительных реакций
- Г) микроглия выполняет опорную функцию для нейронов
- Д) с возрастом число клеток микроглии в головном мозге увеличивается

6. Мутации в генах, кодирующих какие белки, приводят к развитию болезни Альцгеймера?

- А) APP, пресенилин-1, пресенилин-2
- Б) APP, А β 42, А β 40
- В) пресенилин-1, А β 42, А β 40
- Г) пресенилин-2, А β 42, А β 40
- Д) APP, пресенилин-1, А β 42

7. В каком возрасте чаще всего развивается спорадическая форма болезни Альцгеймера?

- А) 65 лет
- Б) 40 лет
- В) 80 лет
- Г) 90 лет
- Д) 55 лет

8. Какую функцию выполняет τ -протеин?

- А) τ -протеин расщепляет APP
- Б) τ -протеин подавляет апоптоз нейронов
- В) τ -протеин является белком, ассоциированным с микротрубочками, необходимыми для роста аксонов
- Г) τ -протеин является белком, ассоциированным с микротрубочками, необходимыми для роста дендритов
- Д) τ -протеин расщепляет APP и является белком, ассоциированным с микротрубочками, необходимыми для роста аксонов

9. Какие функции выполняет белок ApoE?

- А) ApoE участвует в транспорте аминокислот и вовлечен в рост и восстановление нейронов

- Б) ApoE участвует в транспорте холестерина и метаболитов холестерина и триглицеридов, вовлечен в рост и восстановление нейронов
- В) ApoE участвует в транспорте пептидов и подавляет рост нейронов
- Г) ApoE участвует в транспорте холестерина и метаболитов холестерина
- Д) ApoE участвует в транспорте кальция

10. Что представляет собой долговременная потенция (*long term potentiation, LTP*)?

- А) усиление синаптической передачи между нейронами, сохраняющееся на протяжении длительного времени после воздействия на синапс
- Б) сохранение синаптической передачи между нейронами на протяжении длительного времени после воздействия на синапс
- В) ослабление синаптической передачи между нейронами, сохраняющееся на протяжении длительного времени после воздействия на синапс
- Г) усиление синаптической передачи между нейронами, возникающее в ходе развития болезни Альцгеймера
- Д) ослабление синаптической передачи между нейронами, возникающее в ходе развития болезни Альцгеймера

11. Назовите молекулярную мишень действия Мемантина

- А) NMDA-рецепторы
- Б) APP
- В) γ -секретаза
- Г) ApoE
- Д) τ -протеин

12. Какое количество баллов по шкале MMSE позволяет диагностировать болезнь Альцгеймера?

- А) от 10 до 100 баллов
- Б) от 50 до 65 баллов

- В) от 17 до 26 баллов
- Г) от 15 до 60 баллов
- Д) от 80 до 90 баллов

13. Какая из указанных тканей является наиболее перспективной для малоинвазивной прижизненной диагностики болезни Альцгеймера?

- А) фибробласты кожи
- Б) нейроны гиппокампа
- В) буккальный эпителий
- Г) тучные клетки
- Д) спинномозговая жидкость

14. В каких тканях экспрессия белка p53 с возрастом повышается у лиц без нейропатологии и при болезни Альцгеймера?

- А) в гиппокампе и черной субстанции
- Б) в гиппокампе, буккальном эпителии и фибробластах кожи
- В) в черной субстанции, буккальном эпителии и фибробластах кожи
- Г) в коре головного мозга, лимфоцитах крови и фибробластах кожи
- Д) в лимфоцитах крови и фибробластах кожи

15. Наблюдаются ли различия в экспрессии пептида A β 42 в фибробластах кожи у лиц без нейропатологии и у пациентов с болезнью Альцгеймера?

- А) нет, в обоих случаях пептид A β 42 экспрессируется
- Б) нет, в обоих случаях пептид A β 42 не экспрессируется
- В) да, у лиц без нейропатологии пептид A β 42 не экспрессируется, у пациентов с болезнью Альцгеймера — экспрессируется
- Г) да, у лиц без нейропатологии пептид A β 42 экспрессируется, у пациентов с болезнью Альцгеймера — не экспрессируется
- Д) нет однозначного ответа, поскольку такое исследование не проводилось

16. Экспрессия каких сигнальных молекул изменяется в гиппокампе и периферических тканях при болезни Альцгеймера?

- А) FGF, τ -протеина, α -синуклеина

- Б) пептида Аβ42, τ-протеина, α-синуклеина
- В) пептида Аβ42, τ-протеина, FGF
- Г) AIF, FGF, TNF
- Д) пептида Аβ42, AIF, FGF, TNF

17. Белки p53, p16 — это...

- А) транскрипционные факторы, регулирующие клеточный цикл и апоптоз, являются маркерами клеточного старения
- Б) транскрипционные факторы, регулирующие клеточный цикл и пролиферацию, являются маркерами клеточного старения
- В) факторы транскрипции, замедляющие клеточное старение
- Г) факторы трансляции, замедляющие клеточное старение
- Д) транскрипционные факторы, регулирующие дифференцировку фибробластов

18. Протеинкиназа С — это...

- А) фермент, осуществляющий фосфорилирование различных белков-мишеней в клетках и принимающий участие во внутриклеточной передаче сигнала только в тканях головного мозга
- Б) фермент, осуществляющий фосфорилирование различных белков-мишеней в клетках и принимающий участие во внутриклеточной передаче сигнала, в том числе в тканях головного мозга
- В) фермент, осуществляющий дефосфорилирование различных белков-мишеней в клетках и принимающий участие во внутриклеточной передаче сигнала, в том числе в тканях головного мозга
- Г) фермент, осуществляющий дефосфорилирование различных белков-мишеней в клетках и принимающий участие во внутриклеточной передаче сигнала только в тканях головного мозга
- Д) фермент лизосом во всех типах соматических клеток

19. Как связаны между собой белок APP и пептид Аβ42?

- А) пептид Аβ42 является наименее токсичным и склонным к агрегации фрагментом β-амилоида APP
- Б) APP является продуктом гидролиза пептида Аβ42
- В) пептид Аβ42 является наиболее токсичным и склонным к агрегации фрагментом β-амилоида APP
- Г) APP индуцирует синтез синаптотоксичного пептида Аβ42 в норме и при нейродегенеративной патологии
- Д) пептид Аβ42 — второе название APP

20. Какие гистологические признаки позволяют посмертно диагностировать болезнь Альцгеймера?

- А) накопление в головном мозге пациентов сенильных бляшек и нейрофибриллярных клубков
- Б) накопление в головном мозге пациентов протеинкиназы С
- В) накопление в головном мозге пациентов белка APP
- Г) накопление в головном мозге пациентов белков p16 и p53
- Д) накопление в головном мозге пациентов γ-секретазы

ОТВЕТЫ

- | | |
|-------|-------|
| 1. А | 11. А |
| 2. А | 12. В |
| 3. Д | 13. В |
| 4. Д | 14. Б |
| 5. Б | 15. В |
| 6. А | 16. Б |
| 7. А | 17. А |
| 8. В | 18. Б |
| 9. Б | 19. В |
| 10. А | 20. А |

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Зуев В. А., Дятлова А. С., Линькова Н. С., Кветная Т. В. Экспрессия Аβ42, τ-протеина, p16, p53 в буккальном эпителии: перспективы диагностики болезни Альцгеймера и темпа старения организма // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018. Т. 166. №11. С. 627–631.
2. Зуев В. А., Дятлова А. С., Линькова Н. С., Кветной И. М. Перспективы фармакотерапии болезни Альцгеймера // Успехи физиологических наук. 2018. Т. 49. № 4. С. 1–14.
3. Зуев В. А., Дятлова А. С., Линькова Н. С., Кветной И. М. Сравнительная характеристика экспрессии пептида Аβ42 и τ-протеина в гиппокампе, фибробластах кожи и буккальном эпителии у пациентов пожилого и старческого возраста с болезнью Альцгеймера // Клиническая медицина. 2019. Т. 97. № 1. С. 46–51.
4. Зуев В. А., Линькова Н. С., Полякова В. О., Пальцева Е. М., Кветная Т. В., Куканова Е. О. Аβ42 — перспективный неинвазивный маркер для прижизненной диагностики болезни Альцгеймера // Молекулярная медицина. 2017. Т. 15. № 1. С. 24–27.
5. Пальцев М. А., Зуев В. А., Кожевникова Е. О., Линькова Н. С., Кветная Т. В., Полякова В. О., Кветной И. М. Молекулярные маркеры ранней диагностики болезни Альцгеймера: перспективы исследования в периферических тканях// Успехи геронтологии. 2017. Т. 30. № 6. С. 809–817.
6. Пальцев М. А., Кветной И. М., Зуев В. А., Линькова Н. С., Кветная Т. В. Нейродегенеративные заболевания. Молекулярные основы патогенеза, прижизненной персонифицированной диагностики и таргетной фармакотерапии. Серия «Молекулярная патология». СПб., «Эко Вектор». 2019. 200 с.
7. Пальцев М. А., Линькова Н. С., Зуев В. А., Полякова В. О., Белушкина Н. Н., Кветной И. М. Фибробласты кожи как объект для прижизненной молекулярной диагностики болезни Альцгеймера// Молекулярная медицина. 2018. Т. 16. № 5. С. 61–64.
8. Anand R., Gill K. D., Mahdi A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future// Neuropharmacology. 2014. Vol. 76. P. 27–50.
9. Khan T. K., Sen A., Hongpaisan J. PKCε deficits in Alzheimer's disease brains and skin fibroblasts // Journal of Alzheimer's Disease. 2015. Vol. 43 (2). P. 491–509.
10. Morris G. P., Clark I. A., Vissel B. Inconsistencies and controversies surrounding the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease // Acta Neuropathol. Commun. 2014. Vol. 2. №135. P. 1–21.
11. Popugaeva E., Bezprozvanny I. Can the calcium hypothesis explain synaptic loss in Alzheimer's disease? // International Journal of Neurodegenerative Disorders. 2014. Vol. 13 (2–3). P. 139–141.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ЛИНЬКОВА Наталья Сергеевна — профессор кафедры терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА РФ, заведующая лабораторией молекулярных механизмов старения отдела биogerонтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, доцент, доктор биологических наук, автор более 300 научных работ.

КВЕТНОЙ Игорь Моисеевич — руководитель центра молекулярной биомедицины Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии МЗ РФ, руководитель отдела клеточной биологии и патологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, профессор кафедры патологии медицинского факультета Санкт-Петербургского государственного университета, заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор медицинских наук, автор более 500 научных работ.

УМНОВ Роман Сергеевич — старший научный сотрудник лаборатории биogerонтологии отдела биogerонтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, кандидат медицинских наук, автор более 30 научных работ.

ЗУЕВ Василий Александрович — старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии отдела клеточной биологии и патологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, кандидат технических наук, автор 45 научных работ.

КВЕТНАЯ Татьяна Викторовна — заведующая лабораторией биogerонтологии отдела биogerонтологии Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии, профессор, доктор биологических наук, автор более 100 научных работ.

ХАВИНСОН Владимир Хацкелевич — директор Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии (консультативного центра ЭКОСОС ООН по вопросам старения), главный научный сотрудник Института физиологии им. И.П.Павлова РАН, заведующий лабораторией качества личности Северо-Западного института управления РАНХиГС при Президенте РФ, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный изобретатель РФ, профессор, доктор медицинских наук, автор более 1000 научных работ, более 200 патентов, 6 лекарственных препаратов и 45 пептидных биорегуляторов.