ИЗУЧЕНИЕ ВЛ[redacted] АУТОФАГИИ НА КОГНИТИВНЫЕ ДЕФИЦИТЫ И НАРУШЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬЮ АМИЛОИДА-БЕТА

Автор: Зайкова Алена 10Б класс

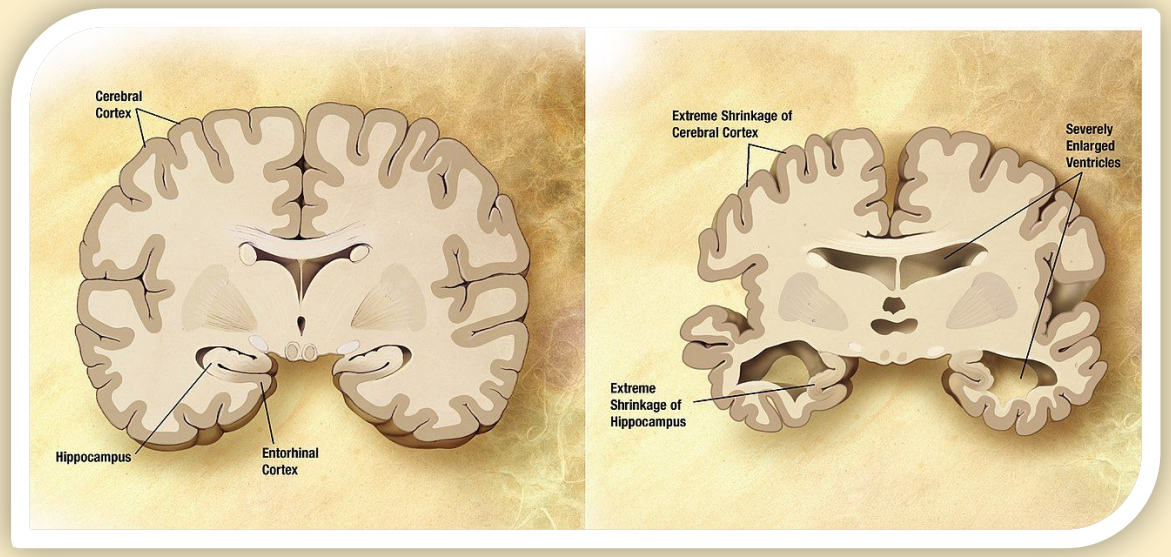
Научный руководитель: д. б. н. Амстиславская Т. Г.

Лаборатория трансляционной биопсихиатрии НИИФФМ

Болезнь Альцгеймера

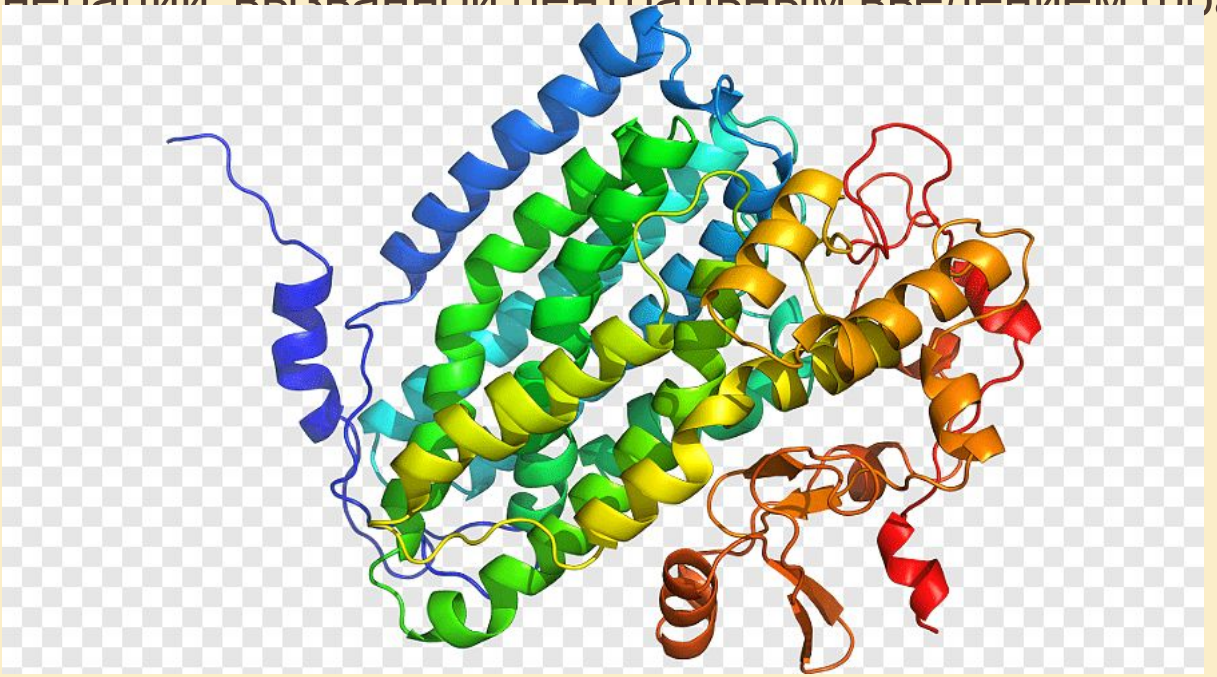
- Боле́знь Альцге́ймера(БА) (также сенильная деменция альцгеймеровского типа) — наиболее распространённая форма деменции, нейродегенеративное заболевание, впервые описанное в 1907 году немецким психиатром Алоисом Альцгеймером.

Основная гипотеза развития БА – концепция «амилоидного каскада» , важными звеньями которого могут быть дефекты процессов аутофагии.



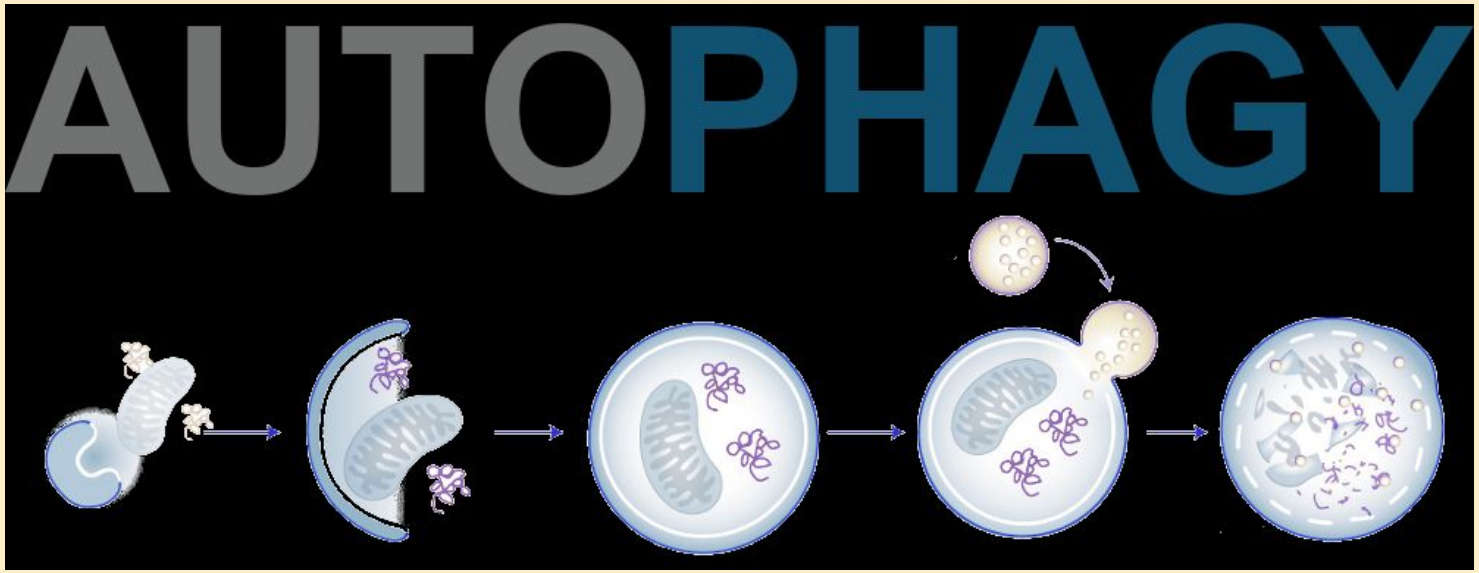
Бета-амилоид

- Бета-амило́иды (англ. amyloid beta, Aβ) — общее название для нескольких пептидов, состоящих из примерно 40 аминокислотных остатков и образующихся из трансмембранного белка — предшественника бета-амилоида.
- Aβ 25-35 используют для создания модели фармокологической нейродегенерации, вызванной центральным введением фрагмента Aβ.

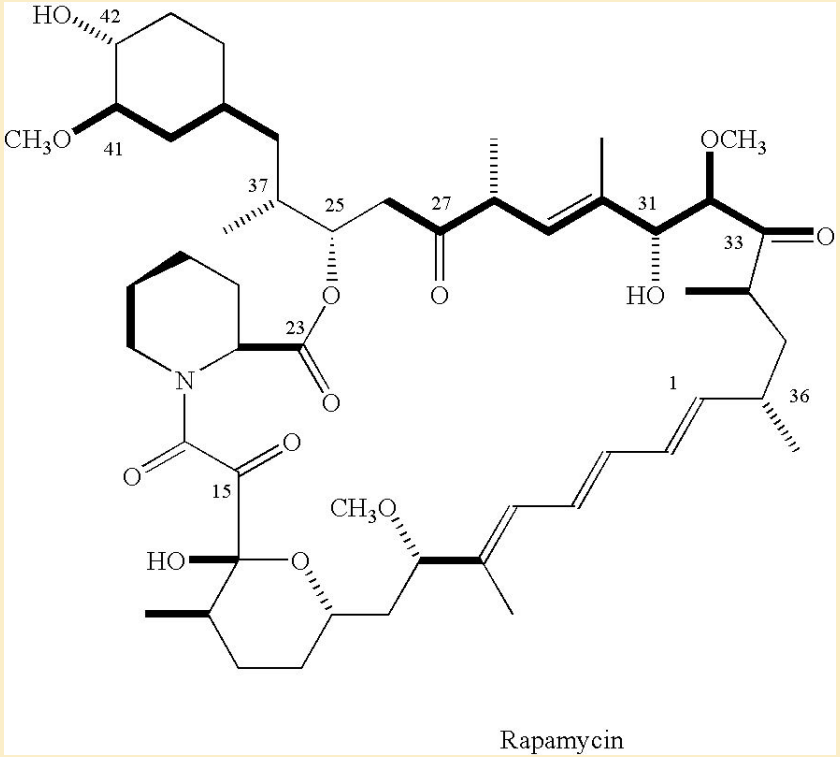


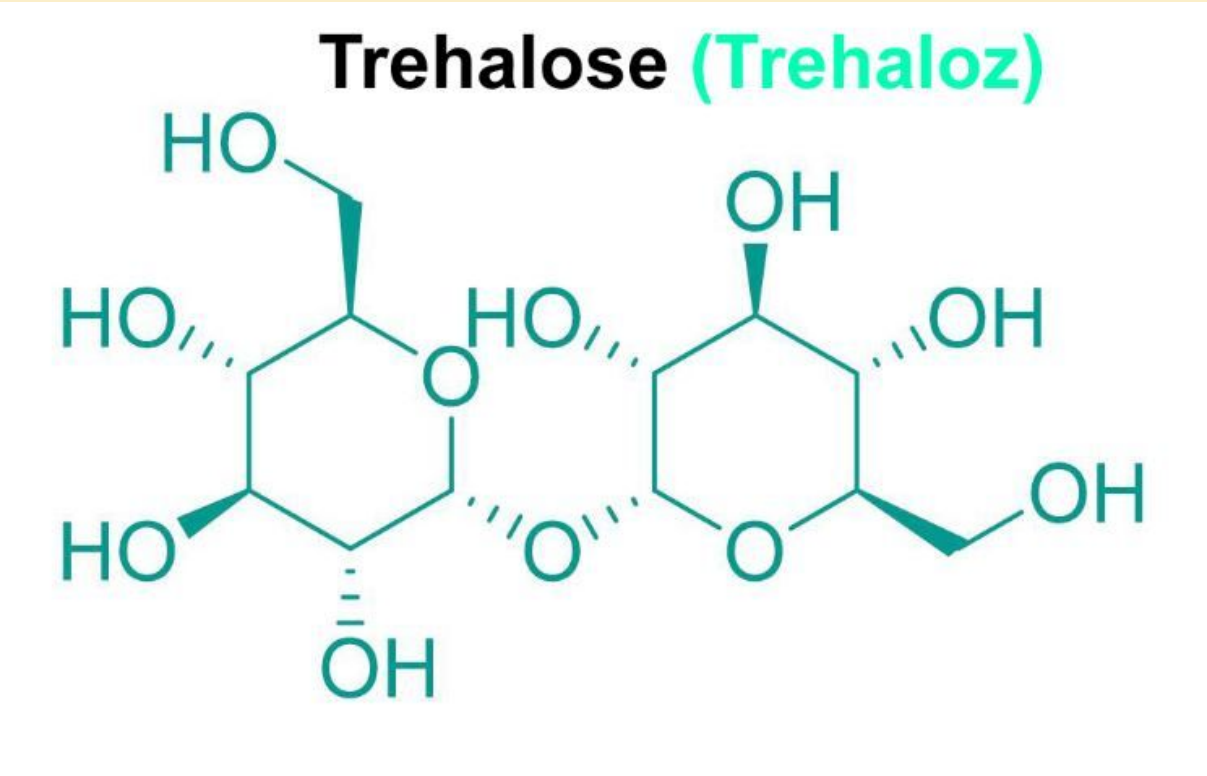
Аутофагия

- Аутофагия — процесс, при котором внутренние компоненты клетки доставляются внутрь её лизосом или вакуолей и подвергаются в них деградации. Является естественным, регулируемым механизмом клетки, который разбирает ненужные или дисфункциональные компоненты. При аутофагическом типе клеточной гибели все органеллы клетки перевариваются, оставляя лишь клеточный дебрис, который поглощается макрофагами.



Активаторы аутофагии – рапамицин и трегалоза





Цель

- Изучить влияние активаторов аутофагии рапамицина и трегалозы на поведенческий фенотип мышей, моделирующих болезнь Альцгеймера.

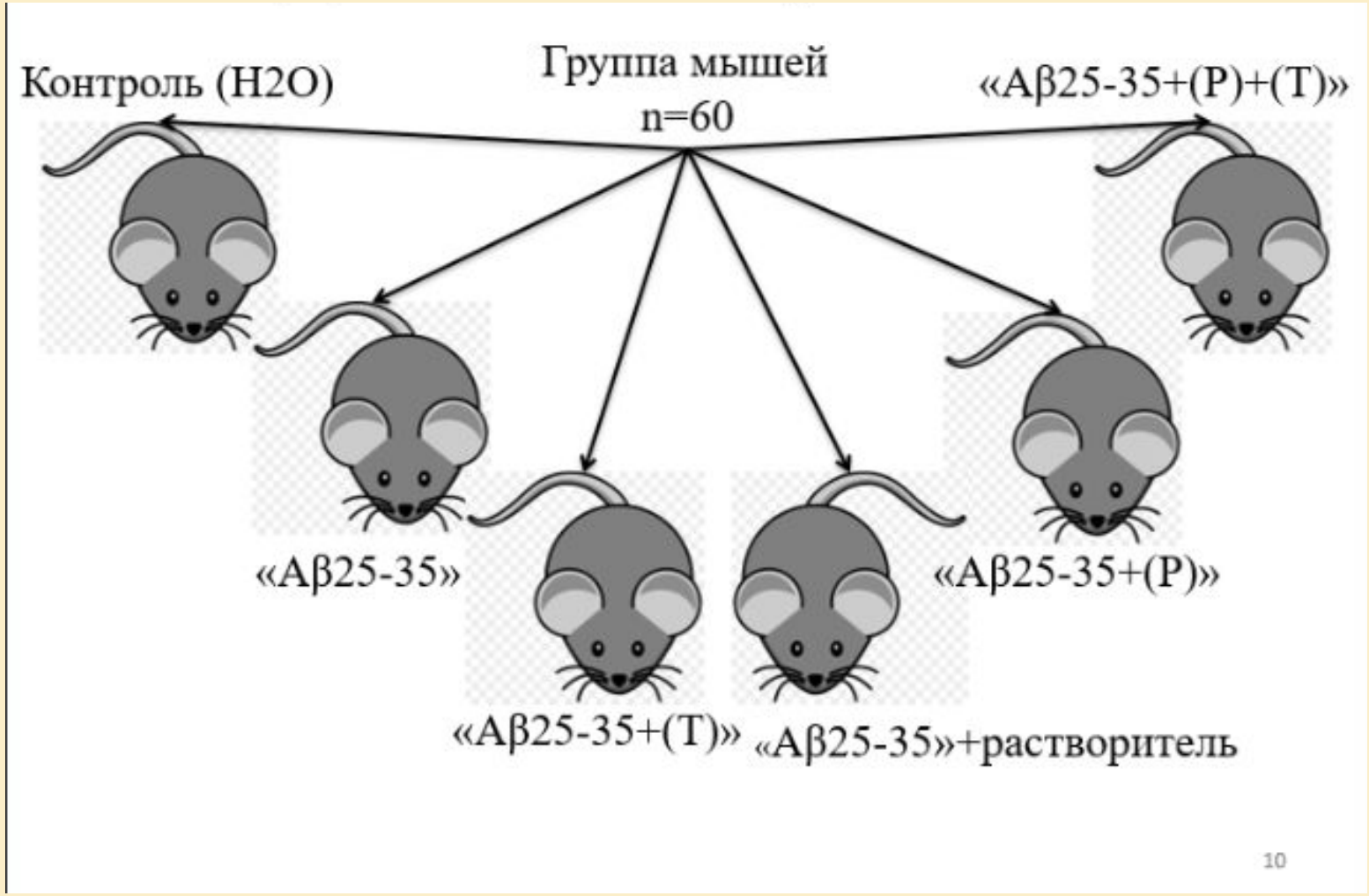
Задачи

- 1. Изучить обусловленную страхом память мышей в тесте пассивного избегания.
- 2. Оценить двигательную и исследовательскую активность, тревожность и эмоциональность мышей в тесте «открытое поле».
- 3. Изучить выраженность тревожности у мышей в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».
- 4. Исследовать маркеры аутофагии и накопления амилоида в CA1 области гиппокампа мышей иммуногистохимическим анализом.

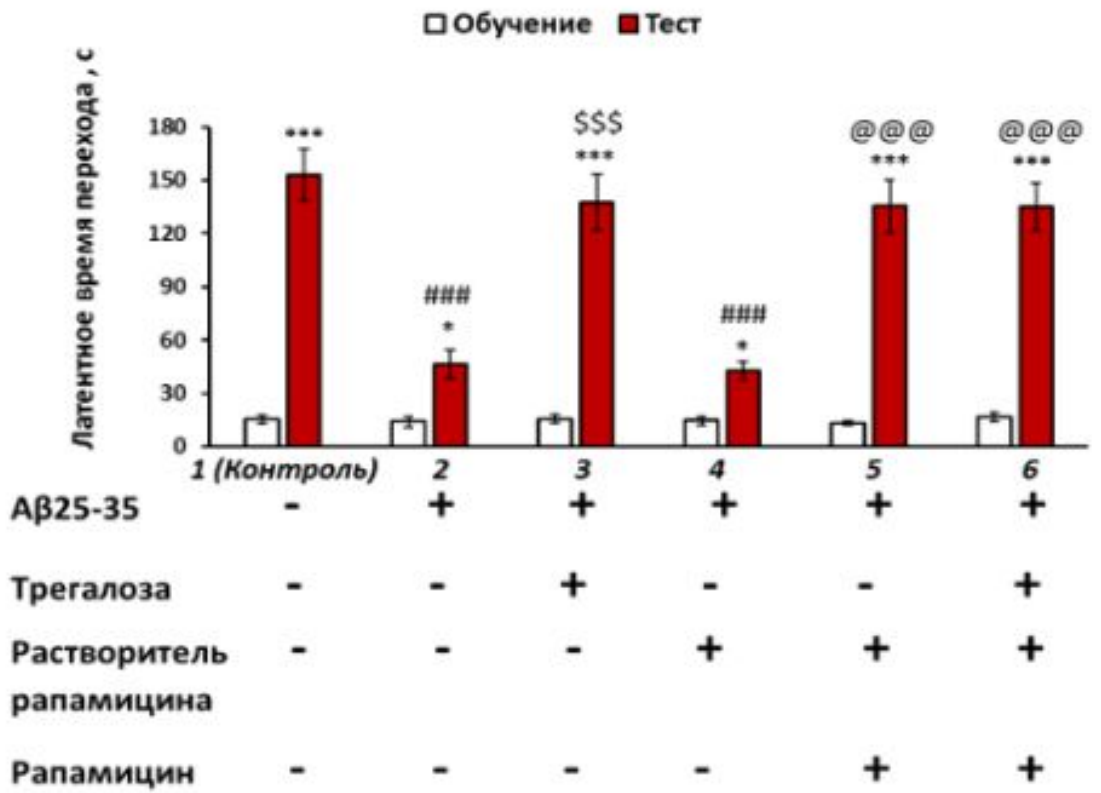
Материалы и методы

- В эксперименте использовали самцов мышей линии **C57BL/6J** в возрасте двух месяцев с фармакологической моделью нейродегенерации, вызванной центральным введением фрагмента Aβ.

Дизайн эксперимента

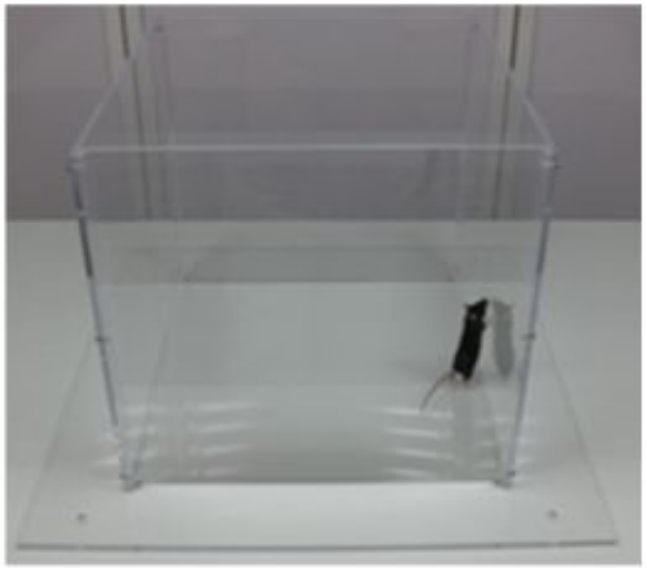


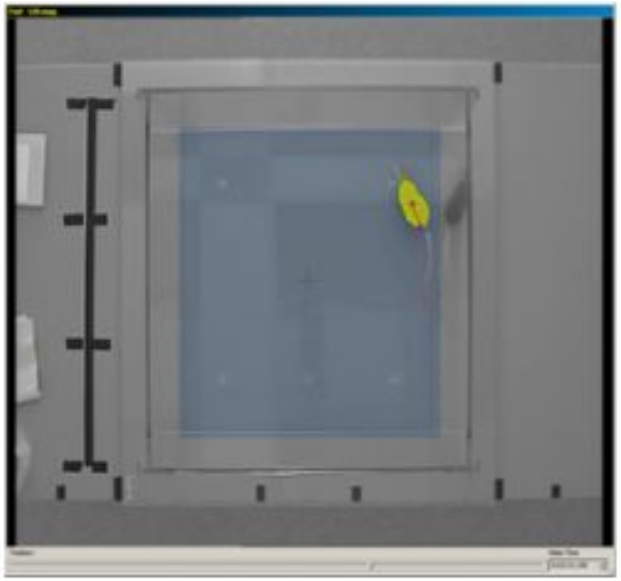
Тест «Пассивного избегания»



Данные представлены как Mean±S.E.M. *p<0,05, ***p<0,001 по сравнению с уровнем до обучения; ###p<0,001 по сравнению с группой «Контроль» в день теста; $$$p<0,001 по сравнению с группой 2 «Aβ25-35» в день теста; @@@p<0,001 по сравнению с группой 4 «Aβ25-35+растворитель (Р)» в день теста

Тест «Открытое поле»





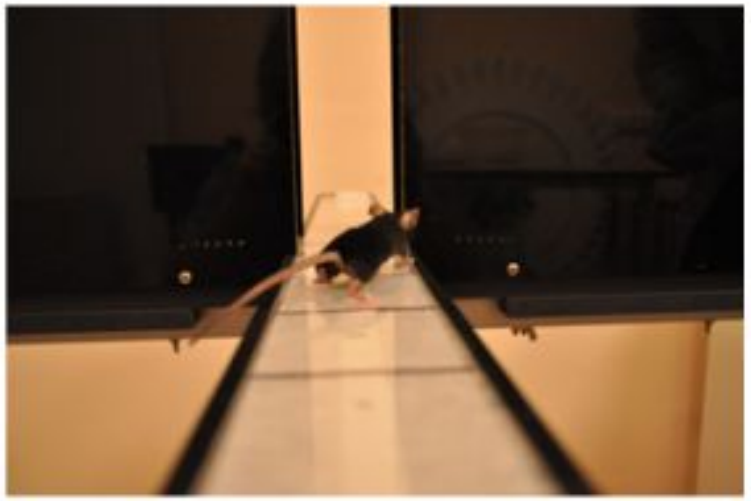
- Показатель общей горизонтальной двигательной активности (пройденный путь)
- Показатель вертикальной двигательной активности и исследовательской активности (кол-во вертикальных стоек)
- Показатель эмоциональности мышей (число актов дефекации)
- Показатель тревожности (время, проведенное в центре поля)

Тест «Открытое поле»

Показатели	Группы					
	Контроль	Aβ25-35	Aβ25-35+(T)	Aβ25-35+ растворитель	Aβ25-35+(P)	Aβ25-35+ (P)+(T)
Пройденный путь, см	2477,8±149,1	2411,9±190,5	2352,9±200,2	2041,4±177,5	2273,2±181,2	2598,5±151,7
Число стоек	64,4±7,1	52,6±8,1	56,7±5,7	50,7±5,3	60,9±5,3	67,9±8,5
Время в центре, с	53,8±9,1	32,1±5,6#	33,1±4,1##	36,9±9,6#	20,0±2,1### @	38,8±4,0&
Число дефекаций	4,3±0,7	3,7±1,1	2,9±0,5	5,3±0,5	3,7±0,5	3,4±0,7

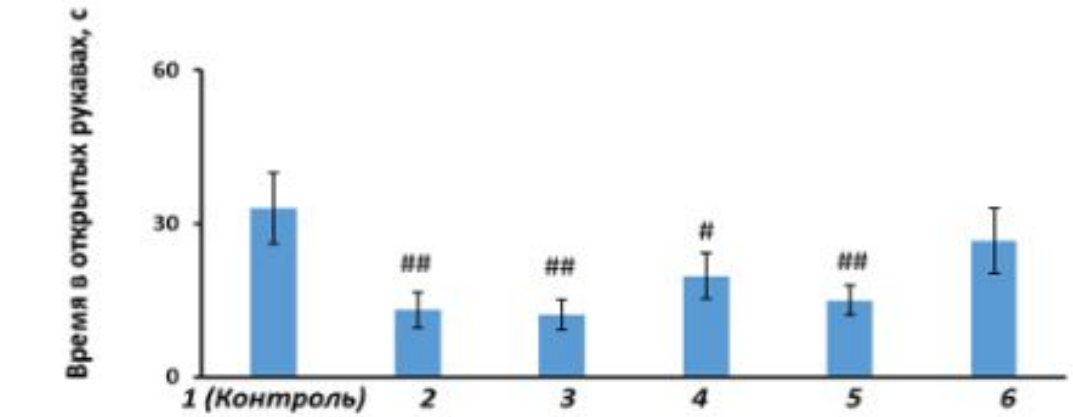
Данные представлены как Mean±S.E.M. #p<0,05,##p<0,01,###p<0,001 по сравнению с группой «Контроль»;@p<0,05 по сравнению с группой «Aβ25-35+растворитель рапамицина»; &p<0,05 по сравнению с группой «Aβ25-35+рапамицин»

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт



•Показатель тревожности (время, проведенное в открытых рукавах лабиринта)

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт

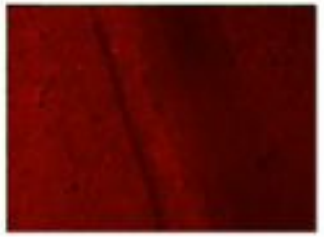


	1 (Контроль)	2	3	4	5	6
Aβ25-35	-	+	+	+	+	+
Трегалоза	-	-	+	-	-	+
Растворитель рапамицина	-	-	-	+	+	+
Рапамицин	-	-	-	-	+	+

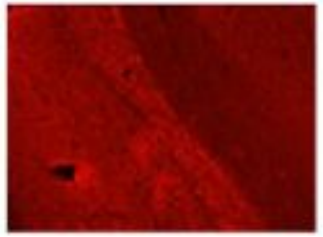
Данные представлены как Mean±S.E.M.
#p<0,05,##p<0,01по сравнению с группой 1 «Контроль»

ИГХ анализ на маркеры аутофагии и накопления амилоида CA1 области гиппокампа

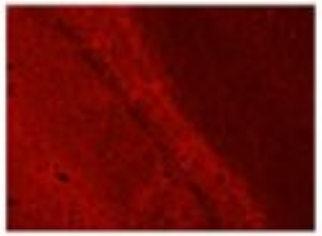
Изменение поведения сопровождалось уменьшением накопления Aβ в гиппокампе, выявленным ИГХ методом с использованием специфичных антител.



Контроль (H2O)



Aβ25-35



Aβ25-35+
р-ль рапамицина

Aβ25-35+рапамицин+
трегалоза

Выводы

1. Активация аутофагии рапамицином и трегалозой улучшала рабочую память мышей с центральным введением Aβ. Суммарного действия комбинации индукторов аутофагии в тесте пассивного избегания не отмечено.

2. Индукторы аутофагии не влияли на показатели общей двигательной и исследовательской активности, эмоциональности мышей в тесте «открытое поле».

3. Совместное введение рапамицина и трегалозы восстанавливало сниженную тревожность, обусловленную введением Aβ в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

4. Комбинация препаратов различного механизма активации аутофагии может дать позитивный терапевтический результат на анимальной модели альцгеймероподобной нейродегенерации.