

УДК 577,112,5,612,8,615,919,616,858

DOI: 10.54503/0514-7484-2024-64.4-77

Соотношение возбуждательных и тормозных синаптических процессов в энторинальной коре мозга, активированной базолатеральной амигдалой на модели болезни Альцгеймера

А.С. Оганнисян

*Институт физиологии им. акад. Орбели НАН РА
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22*

Ключевые слова: энторинальная кора (Entorhinal cortex), базолатеральная амигдала (Basolateral amygdala), амилоидная модель болезни Альцгеймера (БА)

Болезнь Альцгеймера (БА) – самая частая причина прогрессирующей потери памяти и спада когнитивных возможностей у пожилых. БА нейродегенеративное заболевание, которым страдают примерно 55млн человек во всем мире [4], количество которых в 2050 г. увеличится вчетверо. Существуют и половые различия – женщины чаще заболевают БА, в особенности после 85 лет. К настоящему времени нет твердых свидетельств превентивного действия любого из рассматривающихся факторов, которые могут замедлить или предотвратить наступление болезни [7, 11, 12]. Вместе с тем интеллектуальные занятия и регулярное общение, возможно, способны замедлить наступление болезни, либо смягчить её развитие [1]. Даже владение двумя языками ассоциируется с более поздним началом БА [3]. Представлены доказательства токсичности и разрушительного воздействия растворимых олигомеров Аβ на межклеточные нейротрансмиттерные сигналы, ведущие к редукции синаптической интеграции [9]. Более того, дискутируется вопрос физиологического антагонизма эффектов Аβ, при этом уделяется особое внимание глутаматергическим и холинергическим механизмам генерирования и модулирования синаптической пластичности [16]. Энторинальная кора (Entorhinal cortex – ENT) – область, в которой чаще наблюдаются самые ранние гистологические изменения при БА, включая образование нейрофибриллярных клубков и гибель клеток. Недавние исследования с визуализацией мозга у пациентов с доклинической формой БА и электрофизиологические записи на животных моделях БА показали, что нарушение активности нейронов в ENT предшествует нейродегенерации [6]. Иными словами, нарушения памяти и дефицит пространственной навигации на начальной стадии БА, скорее всего, вызваны дисфункцией активности, а не гибелью клеток и основное внимание должно быть уделено обсуждению потенциальных путей смягчения прогрессирования БА путем защиты ENT. В свою очередь, миндалевидное тело (Amygdala – Am) – еще одна важная подкорковая

область, которая серьезно и постоянно поражается при БА. Представляют интерес нейропатологические особенности Ам, пораженной при БА, и возникающие в результате психологические, эмоциональные и когнитивные нарушения у пациентов и на моделях заболевания. Ам также поражается на ранних стадиях БА и приводит к нейропсихиатрическим симптомам, ведущим к функциональным дефицитам, в значительной степени способствующим инвалидности. Примерно у 80% пациентов наблюдаются галлюцинации, бред, паранойя, тревога, возбуждение и аффективные расстройства [13]. Ам получает широкий спектр афферентов, что позволяет интегрировать экстероцептивную информацию с интероцептивными данными. Оно формирует основные проекции на изокортекс (в частности, на префронтальную кору), лимбическую систему (гиппокамп, энторинальную область) и центры, регулирующие эндокринные и вегетативные функции [5].

В настоящем исследовании проведено изучение изменения соотношения возбудительных и депрессорных ответов одиночных нейронов ENT при стимуляции базолатеральной (basolateral) Ам (BLA), с целью оценки механизмов их вовлечения на модели БА, в сравнении с нормой.

Материал и методы

Проведены электрофизиологические исследования на 6 крысах линии Альбино (250г): интактных ($n=3$), на амилоидной модели БА, индуцированной билатеральным интрацеребровентрикулярным введением А β 25–35 и выдержанных до опыта 12 нед. ($n=3$). Введение А β 25–35 осуществляли в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б) по стереотаксическим координатам (AP–1, $L\pm 1,5$, DV+3,5 мм) [17]. Вводили по 3 мкл 10^{-9} М фрагментов А β 25–35 (агрегированного при $t\ 37^\circ\text{C}$ в течение 4 дней). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [8]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стекланные микроэлектроды с диаметром кончика 1–2 мкм, заполненные 2М NaCl, вводили в ENT, согласно стереотаксическим координатам (AP–2,76, $L\pm 1,5$, DV+2,9 мм), для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Осуществляли высокочастотную стимуляцию (ВЧС) BLA посредством прямоугольных толчков тока длительностью – 0,05 мс, амплитудой 0,12–0,18 мВ, силой тока 0,32 мА и частотой 100 Гц в течение 1сек, согласно стереотаксическим координатам (AP–11, $L\pm 3,5$, DV+4,0 мм). Операции осуществляли на наркотизированных животных (уретан 1,2 г/кг, в/б), зафиксированных в стереотаксическом аппарате.

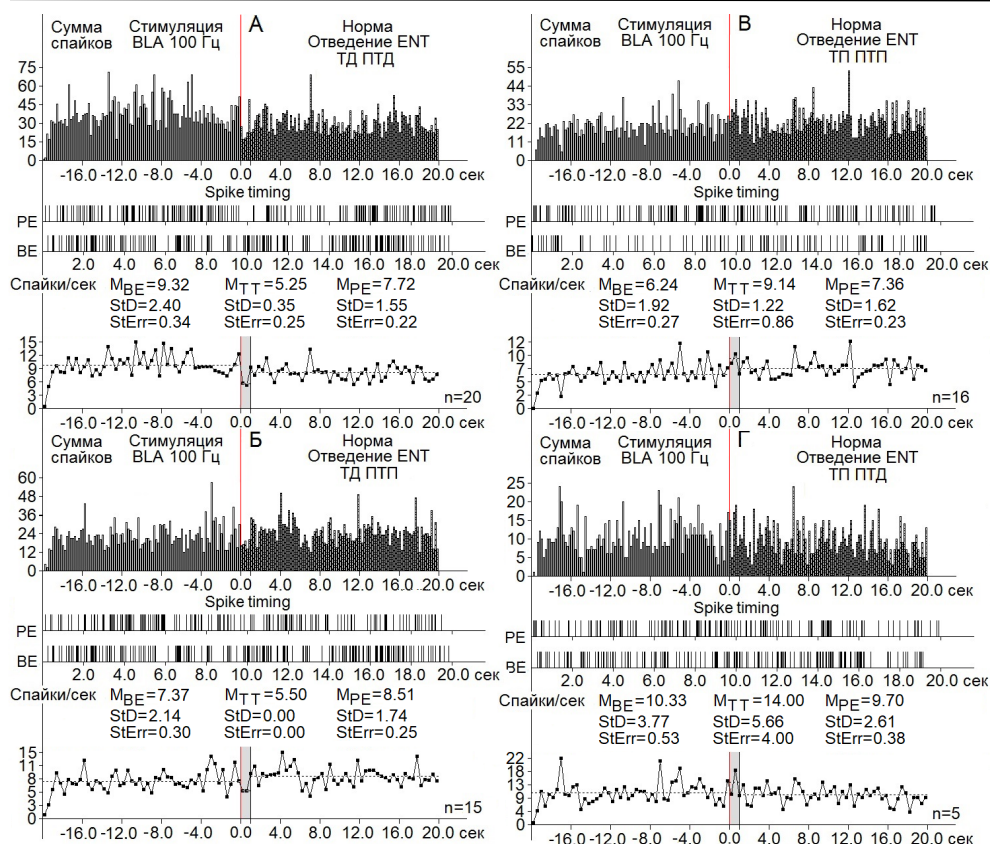


Рис. 1. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), в сочетании с возбудительными – ТД ПТП (Б), возбудительных – ТП ПТП (В) и возбудительно-депрессорных (Г), в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов ENT, вызванных ВЧС Am в норме. Здесь и в следующем рисунке диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (M) для временных отрезков до стимуляции (BE – before event), на время тетанизации (TT – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event), а также стандартной ошибки (StErr) в тех же пределах.

Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

Активность проявлялась в виде тетанической депрессии (ТД) и тетанической потенциации (ТП), с последующей посттетанической потенциацией ПТП и посттетанической депрессией ПТД. Была проанализирована импульсная активность 159 нейронов. Активность оценивалась online регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим селекцию спайков посредством амплитудной дискриминации с выводом растров перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков. Использовался t-критерий Стьюдента и критерий Манна-Уитни Вилкоксона. Учет критических значений, в сравнении с таковыми нор-

мального распределения, при уровнях значимости 0,05, 0,01 и 0,001 (для различных испытаний) показывает, что нейронная активность имеет статистически значимое изменение, как минимум, на уровне 0,05. Статистическая достоверность данных достигается в результате приведенного online математического анализа с использованием стандартной ошибки для соответствующих временных отрезков анализа.

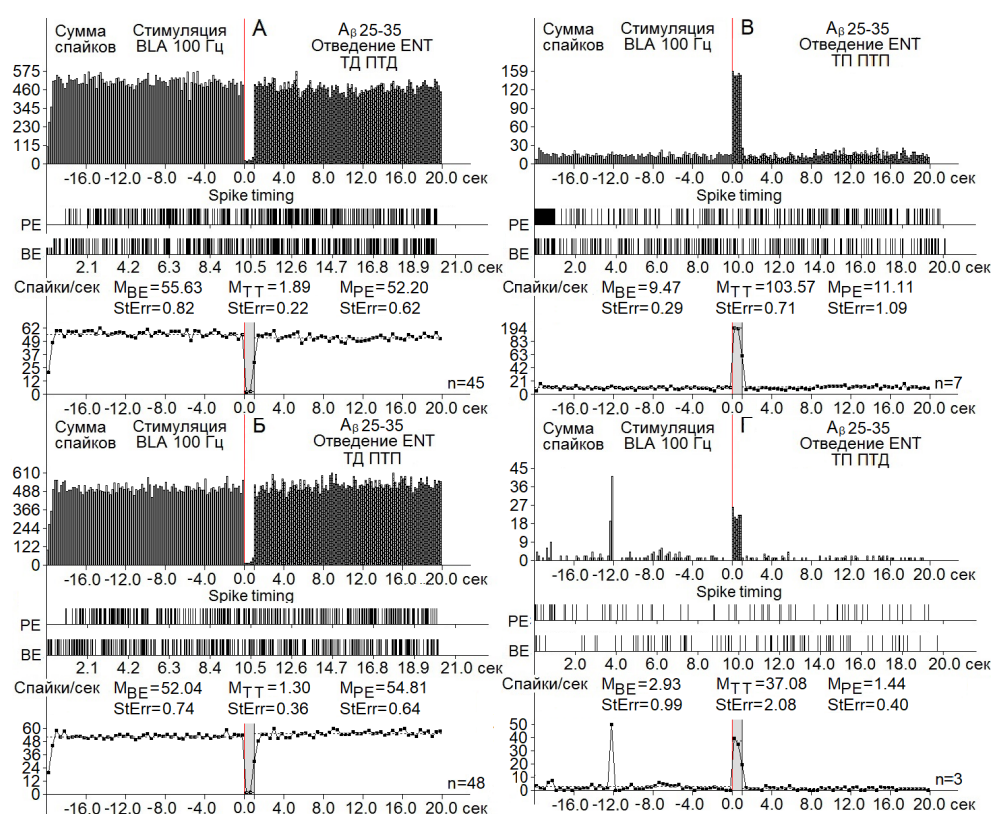


Рис. 2. А, Б – перистимульные гистограммы суммы спайков с диаграммой частоты спайков, с усредненными значениями, сконструированные на основе пре- и постстимульных тетанических депрессорных, в сочетании с депрессорными (А), и возбудительных, в сочетании с возбудительными (Б) проявлениями спайковой активности одиночных нейронов ENT при ВЧС Am на модели БА.
Справа от диаграмм – количество испытаний (n)

Результаты и обсуждение

Производили экстраклеточную регистрацию спайковой активности одиночных нейронов ENT в норме (56 нейронов, $n=3$) и на модели БА (103 нейрона, $n=3$).

Оценивалась степень выраженности депрессорных и возбудительных эффектов. Данные представлены в виде дисковых диаграмм на рис. 3 (на основе рис. 1, 2).

Значения ТД в депрессорной и депрессорно-возбудительной последовательности и уровни ТП в возбудительной и возбудительно-депрессорной последовательности нейронов ENT при ВЧС BLA в норме достигали 1,77- и 1,34-кратного снижения и 1,46- и 1,35-кратного превышения (рис. 1 А-Г; 3 А-Г), в сравнении с престаимпульным уровнем активности. На модели БА значения ТД в депрессорных последовательностях и уровни ТП в возбудительных последовательностях в нейронах ENT достигали 29,43-, 40,03-кратного понижения и 10,93-, 13,10-кратного повышения в сравнении с престаимпульным уровнем активности (рис. 2 А-Г; 3 А-Г). Очевидно усиление эффектов.

Престаимпульная частота в депрессорных эффектах в норме и на модели БА, достигала значений 9,32; 7,37 и 55,63; 52,07 импульсов в секунду соответственно, а в возбудительных эффектах – 6,24; 10,33 и 9,47; 2,83 импульсов в секунду соответственно (рис. 1 А-Г; 3 Д-З). Таким образом, в патологии, в сравнении с нормой, частота в депрессорных эффектах сильно повысилась, в то время как частота в возбудительных эффектах не сильно изменилась.

Постстимульная частота нейронов ENT в норме, в депрессорных и возбудительных эффектах достигала 5,25; 5,50 и 9,14; 14,00 импульсов в секунду, а на модели БА 1,89; 1,30 и 103,57; 37,08 импульсов в секунду (рис. 1 А-Г; 2 А, Б; 3 И-М).

Иными словами, постстимульная частота на модели БА в депрессорных эффектах снизилась, а в возбудительных эффектах – повысилась.

Таким образом, имело место мощное повышение частоты импульсной активности в возбудительных эффектах на модели БА, свидетельствующее о выраженной эксайтотоксичности. Вместе с этим, имело место такое же выраженное понижение частоты активности, сопровождающей депрессорные постстимульные проявления активности, что полагает защиту депрессорных эффектов в патологии на уровне коры мозга, имеющих протекторное назначение.

В заключение, на модели БА выявлена мощная эксайтотоксичность, выраженная в повышении частоты в нейронах, отвечающих на стимуляцию возбудительными эффектами.

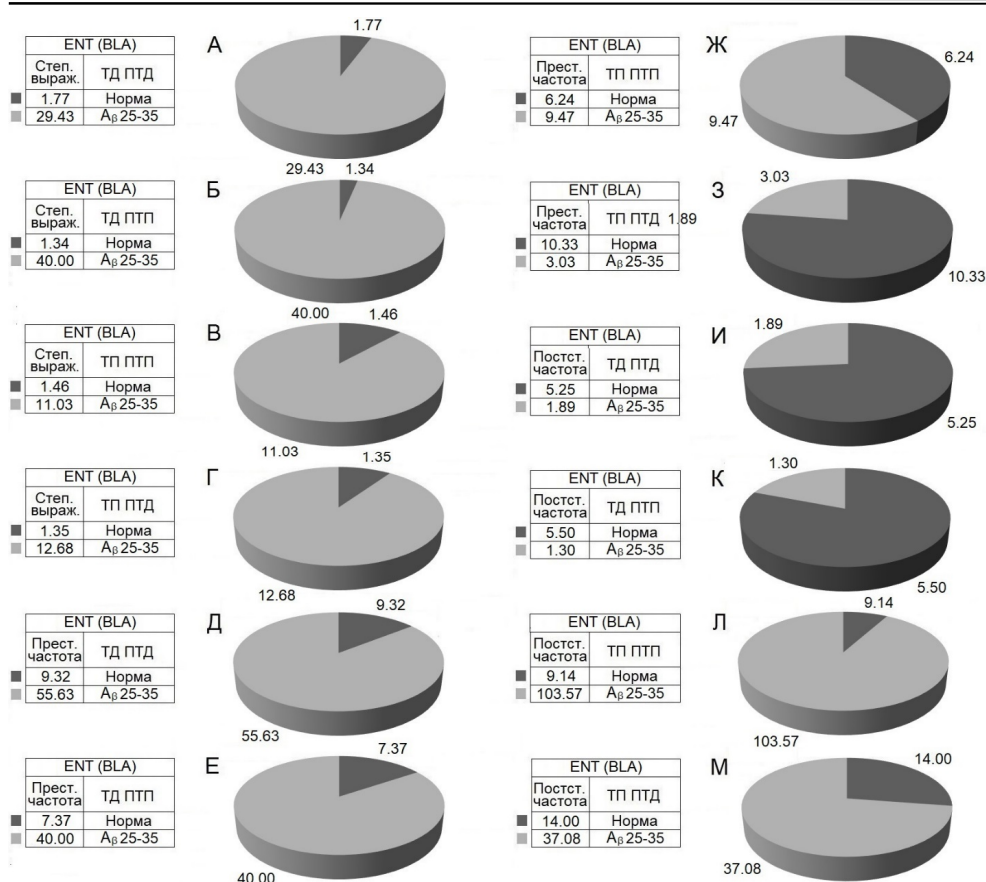


Рис. 3. А-М – соотношение степени выраженности (по усредненной частоте А-Г), депрессорных (ТД ПТД), депрессорно-возбудительных (ТД ПТП), возбудительных (ТП ПТП) и возбудительно-депрессорных (ТП ПТД) постстимульных эффектов в одиночных нейронах ENT при ВЧС Ам, а также частоты престоимпульной (Д-З) и постстимульной (И-М) активности, предшествующих и сопровождающих указанные проявления постстимульной активации, в норме и на амилоидной модели БА.

Обозначения: степ. выраж. – степень выраженности, прест. – престоимпульная, постст. – постстимульная

Такая эксайтотоксичность проявляется в качестве компенсаторной реакции на гибель нейронов, что повреждается сверхактивацией глутаматных NMDA и AMPA рецепторов [14], тем самым, в конечном счете, вызывая апоптоз нейронов и последующую их гибель [10, 15]. Эксайтотоксичность сопровождается нарушением кальциевой буферизации, генерацией свободных радикалов, активацией митохондриальной проницаемости и вторичной эксайтотоксичности [2].

Отмеченное, согласно концепции, выдвинутой в недавно опубликованном сообщении, свидетельствует о том, что в условиях нейродегенерации не-

обходимо углубление депрессорных эффектов, несущих протекторную нагрузку и снижающих чрезмерные возбуждательные реакции [18].

Поступила 05.08.24

Գրգռիչ և արգելակող սինապտիկ պրոցեսների հարաբերակցությունն էնտորինալ կեղևում ակտիվացող բազալատերային ամիգդալայի կողմից Ալցհեյմերի հիվանդության մոդելում

Ա.Ս. Հովհաննիսյան

Էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունն էնտորինալ կեղևի (ENT) 159 միայնակ նեյրոնների բարձր հաճախականության խթանման (ԲՀԽ) գրանցմամբ 6 ավրինտ առնետների (250 ± 30 գ.) բազալատերային ամիգդալայում (BLA), նորմալում ($n=3$) և Ալցհեյմերի հիվանդության (ԱՀ) ամիլոիդային մոդելի վրա, առաջացած Aβ 25-35-ի երկկողմանի ինտրացերեբրալենտրիկուլյար ներարկումով և պահպանվել է մինչև իրականացված փորձը 12 շաբաթ ($n=3$): Դեպրեսորային և գրգռիչ հետխթանման ազդեցությունների արտահայտման աստիճանը գնահատելիս, օգտագործելով միջինացված հաճախականության դիագրամների օրինակը, բացահայտվեց հետևյալը: Տեթանիկ դեպրեսիային արժեքները ինչպես դեպրեսորային հաջորդականություններում, այնպես էլ տեթանիկ պոտենցիացիայի մակարդակները նման գրգռիչ ENT նեյրոններում BLA ԲՀԽ-ամբ ԱՀ մոդելում, համեմատած ակտիվության նախախթանման մակարդակի հետ, հասել են 16,62- և 29,85-ապատիկ և 7,55 և 9,37 - ապատիկ տարածվածության՝ համապատասխանաբար: Պաթոլոգիայում, նորմալի համեմատ, դեպրեսորային հետխթանային ազդեցություններին նախորդող ակտիվության նախախթանման հաճախականությունն աճել է ընդամենը 1,52 անգամ և նվազել 3,41 անգամ, նախորդող գրգռիչներն աճել են 9,47 անգամ, իսկ նախորդող գրգռիչ-դեպրեսորայինների ազդեցությունները նվազել են 3,41-ապատիկ: Ակտիվության հետխթանման հաճախականությունը ԱՀ մոդելում, որն ուղեկցվում է դեպրեսորային ակտիվությամբ, նվազել է 2,61 և 4,23 անգամ, իսկ ուղեկցված գրգռիչ հետխթանման էֆեկտներով գերազանցել է նորման 11,33 և 2,64-ապատիկ:

Եզրակացություն: ԱՀ մոդելում նկատվել է իմպուլսային ակտիվության հաճախականության հզոր աճ, որն ուղեկցում է հետխթանային դրսևորումներին ԱՀ մոդելում, ինչը ցույց է տալիս ընդգծված էքսայթոթոքսիկությունը: Միևնույն ժամանակ նկատվել է ակտիվության նույնքան ընդգծված, բայց նվազող հաճախականություն, որն ուղեկցում է դեպրեսորային հետխթանային գործունեության դրսևորումներին, որը ենթադրում է դեպրեսորային սինապտիկ

ազդեցությունների պաշտպանություն՝ պաշտպանիչ նշանակումով, ուղեղի կեղևի մակարդակում պաթոլոգիայում:

The Ratio of Excitatory and Inhibitory Synaptic Processes in the Entorhinal Cortex Activated by the Basolateral Amygdala in a Model of Alzheimer's Disease

A.S. Hovhannisyan

There were conducted electrophysiological studies with recording 159 single neurons of Entorhinal cortex (ENT) at high frequency stimulation (HFS) basolateral amygdala (BLA) on 6 Albino rats (250 ± 30 g.): intact ($n=3$), on the amyloid model of Alzheimer's disease (AD) induced by bilateral intracerebroventricular injection of Ab 25–35 and maintained, until the experiment, for 12 weeks ($n=3$). When assessing the degree of expression of depressor and excitatory poststimulus effects, using the example of average spike frequency diagrams, the following was revealed. The values of tetanic depression in both depressor sequences and the levels of tetanic potentiation in those of excitatory ENT neurons at the BLA HFS in the AD model, in comparison with the prestimulus level of activity, reached 16,62- 29,85-fold and 7,55 9,37-fold prevalence, respectively. In pathology, in comparison with the norm, the prestimulus frequency of activity preceding depressor post-stimulus effects, increased only 1,52-fold and decreased 3,41-fold, those preceding excitatory ones increased 9,47-fold, but those preceding excitatory-depressive effects – decreased 3,41-fold. The post-stimulus frequency of activity in the AD model, accompanied by depressor activity, decreased by 2,61- 4,23-fold when accompanied by excitatory post-stimulus effects, it exceeded the norm by 11,33- 2,64-fold. In conclusion, there was a powerful increase in the frequency of impulse activity, accompanying post-stimulus excitatory manifestations in the AD model, indicating pronounced excitotoxicity. At the same time, there was an equally pronounced, but decreased frequency of activity, accompanying depressor post-stimulus manifestations of activity, which suggests protection of depressor synaptic effects, protective appointment, at the level of the cerebral cortex in pathology.

Литература

1. *Bennett D.A., Schneider J.A., Tang Y., Arnold S.E., Wilson R.S.* The effect of social networks on the relation between Alzheimer's disease pathology and level of cognitive function in old people: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol.*, 2006, 5(5): 406–412.
2. *Dong X.X., Wan Y., Qin Z.H.* Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2009, 30: 379–387.
3. *E., Craik F.I.M., Freedman M.* «Bilingualism as a protection against the onset of symptoms of dementia» // *Neuropsychologia*, 2007, 42(20): 459–464.
4. *Gauthier G.R., Smith J.A., García C., Garcia M.A., and Thomas P.A.* Exacerbating Inequalities: Social Networks, Racial/Ethnic Disparities, and the COVID-19 Pandemic in the United States. *Gerontol B Psychol Sci Soc Sci.*, 2021, 76(3): e88–e92.

5. H., Braak E., Yilmazer D., de Vos R. A. I., Jansen E.N.H., Bohl J. & Jellinger K. Amygdala pathology in Parkinson's disease *Acta Neuropathologica*, 1994, 88: 493–500.
6. Igarashi K.M. Entorhinal cortex dysfunction in Alzheimer's disease *Trends Neurosci.*, 2023, 46(2): 124–136.
7. Kwas C.H. «Medications and diet: protective factors for AD ?» // *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 2006, 20(Suppl 2): S89–96.
8. Kilkenny C., Browne W., Cuthill I.C., Emerson M., Altman D.G. Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines 06 July 2010.
9. 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, 27: 796–807.
10. Lucas D.R., Newhouse J.P. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *AMA Archives of ophthalmology*, 1957, 58(2): 193–201.
11. Luchsinger J.A., Noble J.M., Scarmeas N. «Diet and Alzheimer's disease» // *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 2007, 7(5): 366–372.
12. Luchsinger J.A., Mayeux R. «Dietary factors and Alzheimer's disease» // *Lancet Neurol.*, 2004, 3(10): 579–587.
13. Lyketsos C.G., Lopez O., Jones B., Fitzpatrick A. L., Breitner J., Dekosky S. Prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia and mild cognitive impairment: results from the cardiovascular health study. *Jama JAMA*, 2002, 288(12):1475-1483.
14. Matthew R.H., Heather L.S., Peter R.D. Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *NCI*, 2004, 45 (5): 583–595.
15. Olney J.W. Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with Monosodium glutamate. *Science*, 1969, 164(3880):719–721.
16. Ondrejcek 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, 12(1): 13-26.
17. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005, p. 367.
18. Sarkissian J.S., Poghosyan M.V., Danielyan M.A., Stepanyan H.Y, Vardanyan A.V. The assign of depressor synaptic processes in condition of specific neurodegenerative pathology and protection. *LAP LAMBERT Academic Publishing RU*, 2018, p. 252 (in Russ).