

**Экспериментальная и профилактическая медицина**

УДК 616.894-053.8

DOI: 10.54503/0514-7484-2026-66.1-22

**Изучение импульсной активности нейронов базолатеральной  
амигдалы на модели болезни Альцгеймера с протекцией  
меланином****А.С. Оганесян, М.В. Погосян, А.Ю. Степанян, Р.Ш. Саркисян,  
М.А. Даниелян, З.А. Аветисян, Дж.С. Саркисян***Институт физиологии им. акад. Орбели НАН РА  
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22**Ключевые слова:* болезнь Альцгеймера, базолатеральная амигдала, меланин, импульсная активность нейронов**Введение**

Болезнь Альцгеймера (БА) является первичной нейродегенеративной деменцией и одной из ведущих причин инвалидизации пожилых людей [14]. БА клинически характеризуется прогрессирующим глобальным когнитивным нарушением, которое влияет на способность человека выполнять повседневные действия и связано с внеклеточным накоплением бета-амилоидных бляшек и интранейрональным отложением тау-клубков [1]. При БА распространенность тревожности колеблется от 9,4% (доклиническая фаза) до 39% (от легкого до тяжелого снижения) [3], а распространенность депрессии при легкой и умеренной БА колеблется от 14,8% [2] до 40% [4].

БА характеризуется прогрессирующим снижением памяти и нейропсихиатрическими симптомами. Несмотря на то, что общие эмоциональные симптомы при БА, такие как тревога и страх, связаны с более быстрым снижением когнитивных способностей, патологические механизмы, участвующие в этих изменениях поведения, остаются в значительной степени неясными [6].

Например, у трансгенных мышей Amyloid Precursor Protein (APP) в раннем возрасте проявлялись усиленные врожденные и обусловленные симптомы страха и нарушения пространственной памяти, что совпадало с повышенным накоплением Abeta в ГАМКергических и глутаматергических нейронах базолатеральной миндалины (BLA) соответственно. Аналогичным образом количество нейронов с интранейрональными Abeta40 и Abeta42 было значительно увеличено в BLA головного мозга человека с БА [6].

Таким образом, возникает необходимость более детального исследования базолатеральной амигдалы. В настоящей работе изучалось изменение им-

пульсной активности нейронов (BLA) на амилоидной модели БА. Также исследовалось применение меланина в качестве терапевтического средства.

### Материал и методы

Проведены электрофизиологические исследования на 18 крысах линии Альбино (230г) в трех экспериментальных сериях: интактных ( $n=6$ ), на модели БА, индуцированной унилатеральным введением  $A_{\beta}$  25–35 и выдержанных до опыта 4 нед. ( $n=6$ ), на модели БА, в условиях протекции меланином (по 14 инъекций через день в дозе 1,25 мг/кг) ( $n=6$ ). Введение  $A_{\beta}$  25–35 осуществляли в условиях нембуталового наркоза (40 мг/кг, в/б) в латеральные желудочки мозга по координатам стереотаксического атласа [12] (AP -1,56;  $L \pm 2,3$ ; DV 3,6 мм). Исследование проводилось в соответствии с принципами Базельской декларации и рекомендациями руководства ARRIVE [7]. В стереотаксическом аппарате производили трепанацию черепа от брегмы до лямбды и вскрывали твердую мозговую оболочку. Стеклообразные микроэлектроды с диаметром кончика 1–2 мкм, заполненные 2М NaCl, вводили в BLA согласно стереотаксическим координатам (AP -2,28;  $L \pm 5$ ; DV 8,7 мм) для экстраклеточной регистрации спайковой активности одиночных нейронов. Осуществляли высокочастотную стимуляцию (ВЧС) ипсилатеральной энторинальной коры (ENT) 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 -5,4;  $L \pm 6,5$ ; DV 8,3 мм). Активность проявлялась в виде тетанической депрессии (ТД) и тетанической потенциации (ТП) с последующей посттетанической потенциацией (ПТП) и посттетанической депрессией (ПТД). Регистрации нейрональной активности производились с использованием наркоза уретан 1,2 г/кг, в/б.

Проводили анализ одиночной спайковой активности 318 нейронов. Постстимульные проявления активности оценивали онлайн регистрацией и программным математическим анализом, позволяющим селекцию спайков амплитудной дискриминацией с выводом растров перистимульного спайкинга нейронов, построением гистограмм суммы и диаграмм усредненной частоты спайков. Строили суммированные и усредненные перистимульные (PETH Average) гистограммы и гистограммы частоты (Frequency Average) с вычислением средней частоты спайков. Однородность двух независимых выборок контролировалась  $t$ -критерием Стьюдента (параметрический метод статистического анализа). С целью повышения статистической достоверности перистимульных изменений межспайковых интервалов использовали также двухвыборочный критерий Манна-Уитни Вилкоксона, в качестве непараметрического, оценивающего однородность независимых двух выборок [11]. Так как число регистрируемых спайков было достаточно велико (до нескольких сотен спайков за 10–20-секундный интервал после действия стимула), использовалась разновидность указанного теста –  $z$ -тест, определяющего его асимптотическую нормальность. Учет критических значений, в сравнении с таковыми

нормального распределения при уровнях значимости 0,05; 0,01 и 0,001 (для различных испытаний), показывает, что в большинстве случаев спайкинга нейрональной активности при ВЧС статистически значимое изменение достигало, как минимум, уровня 0,05.

### Результаты и обсуждение

Производили экстраклеточную регистрацию спайковой активности одиночных нейронов ВЛА в норме (104 нейрона, n=6), на модели БА (105 нейронов, n=6), с протекцией меланином (109 нейронов, n=6), с выдерживанием до 4 нед. В результате регистраций нейрональной активности получены следующие результаты.

Значения ТД в депрессорной последовательности и уровень ТП в возбудительной последовательности в нейронах ВЛА в ответ на ВЧС ENT в норме достигали 1,77-кратного снижения и 1,65-кратного превышения (рис. 1; 4 А, Б), в сравнении с престаимпульным уровнем активности соответственно. Как видно, значения престаимпульной частоты в депрессорных тетанических эффектах в исследуемых нейронах в норме оказались выше соответствующих возбудительных. Однако значения депрессорных и возбудительных тетанических эффектов мало отличались, что свидетельствует об их балансе.

На модели БА значения тетанической депрессии и потенциации в депрессорной и возбудительной последовательностях нейронов ВЛА в ответ на ВЧС ENT, в сравнении с нормой (1,43-, 1,31- и 1,36-, 1,24-кратное при БА в сравнении с 1,77- и 1,65-кратным в норме), несколько больше отличались (рис. 1; 2; 4 А-Г).

На модели БА в условиях протекции меланином в нейронах ВЛА в ответ на ВЧС ENT значения ТД и ТП в обеих постстимульных последовательностях исчислялись в пределах 1,52-, 1,50-кратного снижения и 1,47-, 1,48-кратного превышения престаимпульной активности (против 1,43-, 1,31-кратного снижения и 1,36-, 1,24-кратного превышения в патологии) (рис. 2 А-Г; 3 А-Г; 4 А-Г).

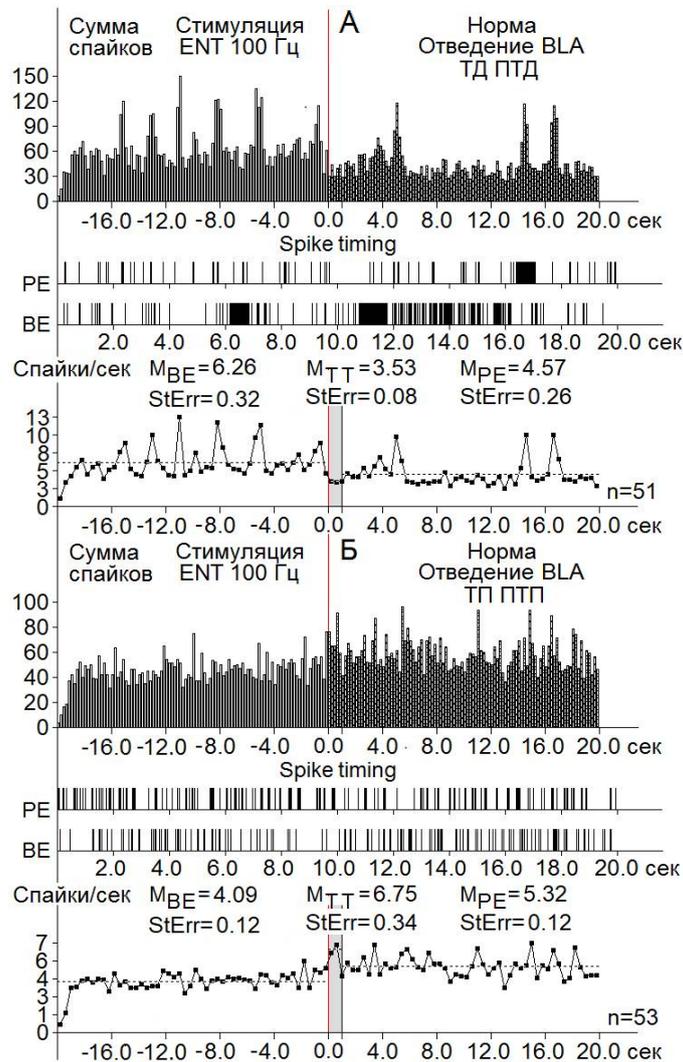


Рис. 1. А, Б – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных депрессорных – ТД ПТД (А) и возбудительных – ТП ПТП (Б) тетанических проявлений активности, в реальном времени 20 сек (до и после стимуляции) нейронов BLA, вызванных ВЧС ENT в норме. Здесь и на остальных аналогичных рисунках: диаграммы частоты спайков, представленных в гистограммах, с усредненными значениями (M) для временных отрезков до (BE – before event), на время тетанизации (TT – time tetanization) и после стимуляции (PE – post event). Справа от диаграмм – количество испытаний (n). Остальные обозначения на рис.

Отмечается не столь выраженное изменение эффектов. Иными словами, с учетом лишь кратности измерений сравнительных показателей указанных постстимульных эффектов в патологии, в сравнении с таковыми в условиях протекции, имели место определенные сдвиги, но они не дают оснований для

окончательного заключения. Интересная, к тому же более выраженная, картина была обнаружена при сравнении частоты пре- и постстимульной активности нейронов BLA в ответ на ВЧС ENT.

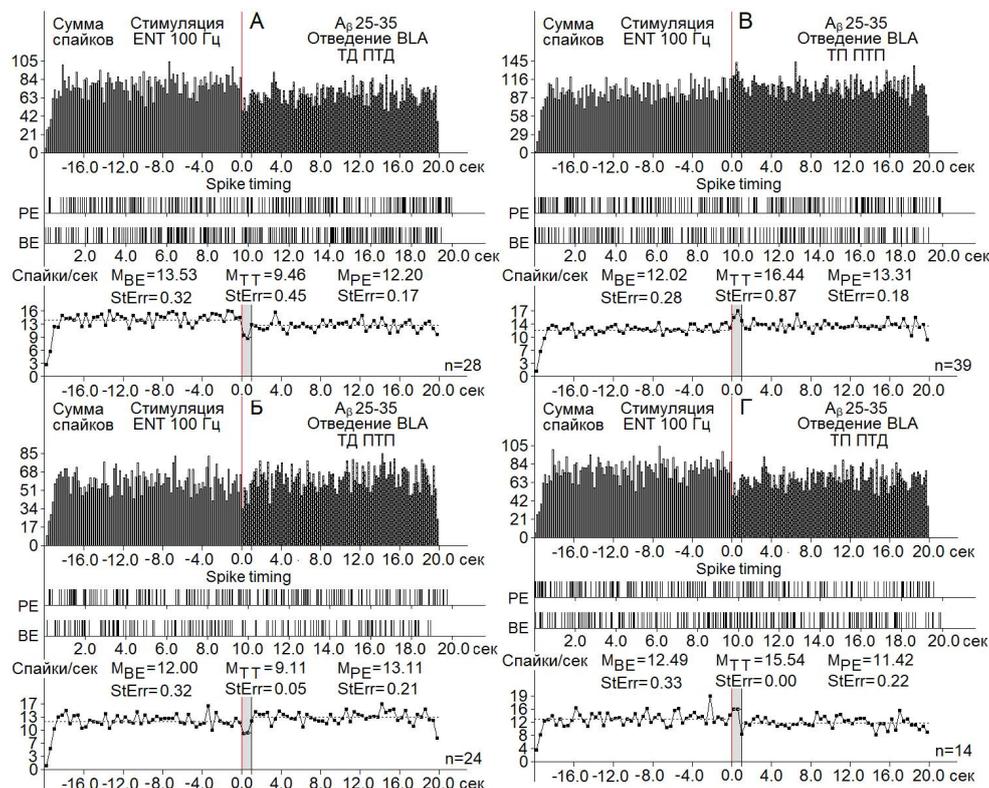


Рис. 2. А-Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), в сочетании с посттетаническими возбуждающими – ТД ПТП (Б), возбуждающими – ТП ПТП (В), в сочетании с посттетаническими депрессорными (Г), нейронов BLA при ВЧС ENT на модели БА, вызванной Аβ 25-35. Растры активности на А-Г – детальный анализ произвольно выбранных одиночных нейронов этой группы. Справа от диаграмм – количество проб (n)

Очевидно наличие значительной эксайтотоксичности на модели БА, в сравнении с нормой, свидетельствующей о выраженной нейродегенерации, предшествующей как депрессорным (2,16-кратно превалирующей), так и возбуждательным постстимульным эффектам (3,03-кратно превалирующей), что и следовало ожидать.

На модели БА с протекцией меланином престимульная частота активности в нейронах BLA, предшествующая депрессорной и возбуждательной последовательностям, исчислялась в пределах 6,47; 5,77 и 6,17; 6,20

соответственно, по сравнению с 13,53; 12,00 и 12,02; 12,49 в патологии без протекции и 6,26 и 4,09 в норме (рис. 1–3; 4 Д-3).

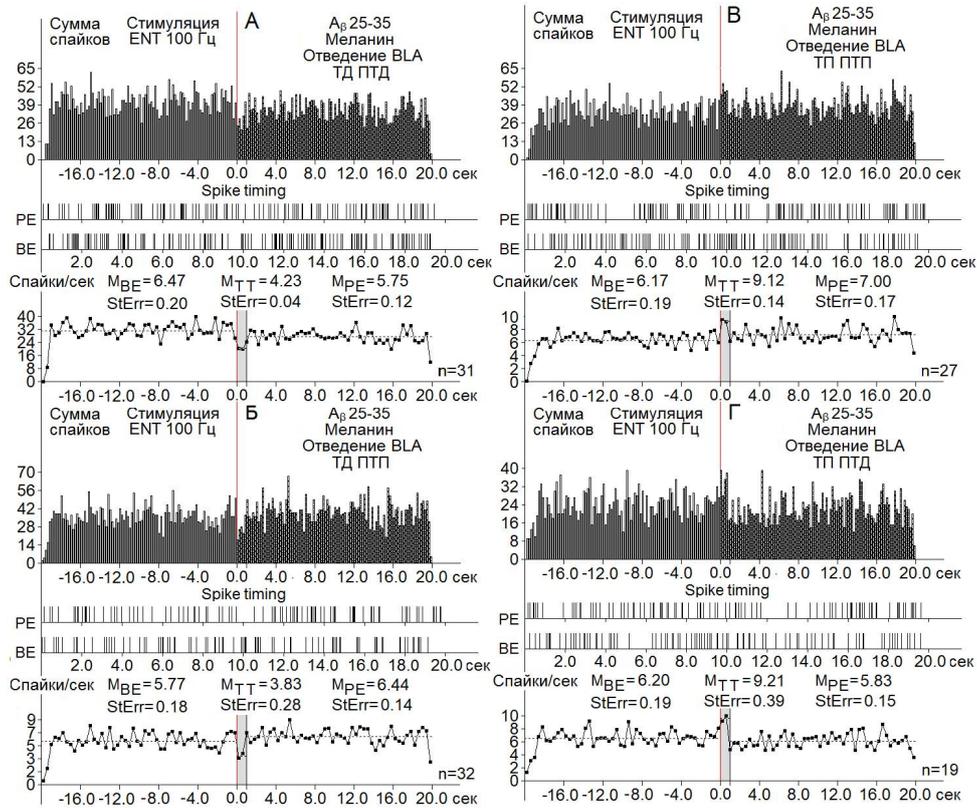


Рис. 3. А–Г – гистограммы суммы спайков пре- и постстимульных тетанических депрессорных проявлений активности ТД ПТД (А), в сочетании с посттетаническими возбуждающими – ТД ПТП (Б), возбуждающими – ТП ПТП (В), в сочетании с посттетаническими депрессорными (Г), нейронов BLA при ВЧС ENT на модели БА, вызванной Аβ 25-35, с протекцией меланином. Растры активности на А–Г – детальный анализ произвольно выбранных одиночных нейронов этой группы. Справа от диаграмм – количество проб (n)

Иными словами, в патологии с протекцией прететаническая частота активности, предшествующая депрессорному постстимульному эффекту, понизилась 2,10-кратно, а таковая, предшествующая возбуждательному – 2,05-кратно, с реальным приближением к норме. Таким образом, в условиях протекции, в сравнении с патологией, имел место очевидный спад прететанической частоты, предшествующей депрессорному и возбуждательному постстимульным тетаническим эффектам, а следовательно, понижение чрезмерно завышенной токсичной возбудимости, что явно свидетельствует в пользу протекции меланином.

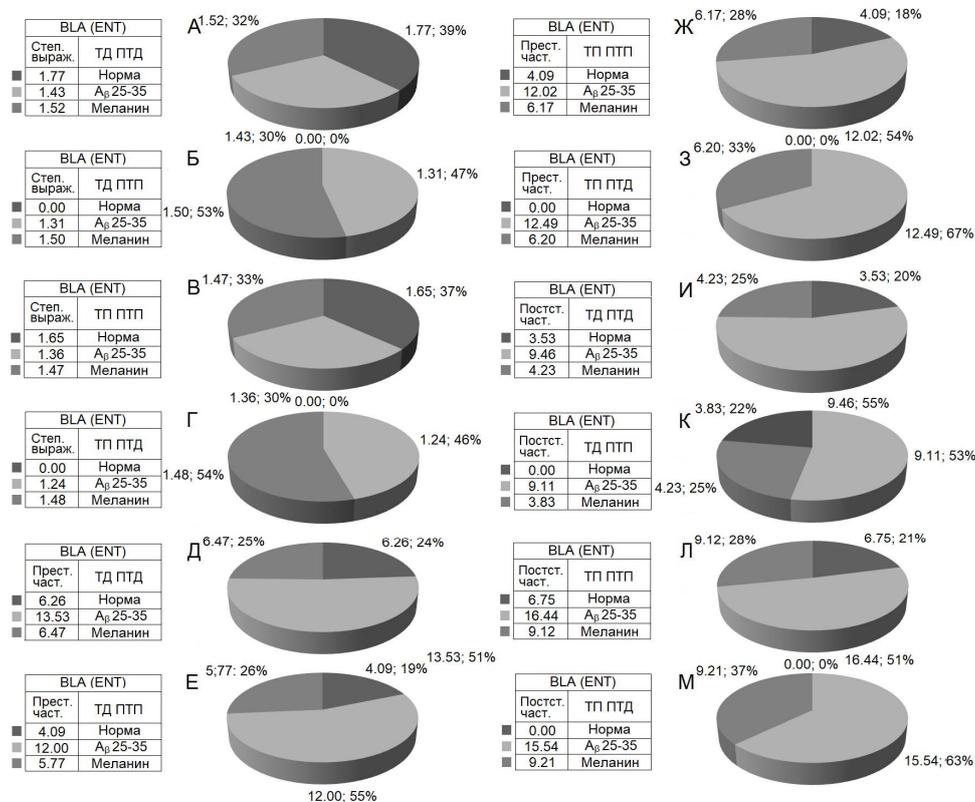


Рис. 4. А-М – процентное и цифровое соотношение степени выраженности (по средней частоте) депрессорных – ТД ПТД (А), депрессорно-возбуждающих – ТД ПТП (Б), возбуждающих – ТП ПТП (В) и возбуждительно-депрессорных – ТП ПТД (Г) постстимульных эффектов в одиночных нейронах VLA при ВЧС ENT, а также частоты престаимulatory (Д-З) и постстимульной (П-М) активности, предшествующей и сопровождающей указанные проявления постстимульной активации в норме, на модели БА и с протекцией меланином. Обозначения: Степ. выраж. – степень выраженности, Прест. част. – престаимulatory частота, Постст. част. – постстимульная частота

Что же касается постстимульной частоты активности нейронов VLA, то в норме, будучи сопровождаемой депрессорными и возбуждательными постстимульными эффектами, она достигала 3,53 и 6,75, а на модели БА – 9,46; 9,11; 16,44 и 15,54 (рис. 1, 2; 4 И-М). Иными словами, на модели БА постстимульная частота, сопровождаемая депрессорными реакциями, значительно превысила норму – 2,68-кратно, а сопровождаемая возбуждательными также превысила – 2,43-кратно. Таким образом, в целом, имело место достаточное повышение частоты постстимульной активности, свидетельствующее так же, как и в случае таковой престаимulatory частоты, о выраженной эксайтотоксичности (рис. 1; 2; 4 И-М). Далее, в условиях протекции меланином, произошло

значительное снижение частоты постстимульной тетанической активности на модели БА, сопровождаемой депрессорной и возбудительной активностью в пределах 4,23; 3,83 и 9,12; 9,21 (т.е. в пределах 2,23-, 2,37- и 1,78-, 1,68-кратного соответственно) с фактическим приближением к норме (3,53 и 6,75). В заключение, на модели БА выявлена выраженная эксайтотоксичность, которой успешно противодействует меланин.

Эксайтотоксичность при нейродегенеративных заболеваниях, возникающая в качестве компенсаторной реакции на снижение возбуждения в результате гибели нейронов, повреждает их сверхактивацией глутаматных NMDA и AMPA рецепторов [9], тем самым вызывая апоптоз нейронов и последующую гибель [8,10]. Эксайтотоксичность сопровождается нарушением кальциевой буферизации, генерацией свободных радикалов, активацией митохондриальной проницаемости и вторичной эксайтотоксичности [5]. Отмеченное, согласно концепции, выдвинутой в недавно опубликованном сообщении, свидетельствует о необходимости углубления, в условиях нейродегенерации, депрессорных эффектов, несущих протекторную нагрузку и снижающих чрезмерные возбудительные реакции [13].

*Поступила 19.01.26*

**Ալցհայմերի հիվանդության մոդելի պայմաններում բազլատերալ ամիգդալայի նեյրոնների իմպուլսային ակտիվության ուսումնասիրություն մելանինի ազդեցության պայմաններում**

**Ա.Ս. Հովհաննիսյան, Մ.Վ. Պողոսյան, Ա.Յու. Ստեփանյան, Ռ.Շ. Սարգսյան, Մ.Հ. Դանիելյան, Զ.Ա. Ավետիսյան, Զ.Ս. Սարգսյան**

Ալցհայմերի հիվանդությունը (ԱՀ) գլխուղեղի քրոնիկական նեյրոդեգեներատիվ հիվանդություն է, որը բնութագրվում է ինտելեկտուալ կարողությունների արտահայտված նվազմամբ: Ներկայումս մշակված չեն ԱՀ-ի ամբողջական բուժման արդյունավետ մեթոդներ: Հույսերով վաղաժամ կախված է ամիգդալայից՝ քունքային բլթի մի կառույցից, որն Ալցհայմերի հիվանդության վաղ փուլերում ախտահարվում է β-ամիլոիդի կուտակման և նեյրոֆիբրիլյար հանգույցների առաջացման հետևանքով:

Այս աշխատանքում ուսումնասիրվել է բազլատերալ ամիգդալայի (BLA) նեյրոնների իմպուլսային ակտիվությունն Ալցհայմերի հիվանդության ամիլոիդային մոդելի պայմաններում: Բացի դրանից, հետազոտվել է մելանինի կիրառումը՝ որպես պոտենցիալ թերապևտիկ միջոց: ԱՀ-ի մոդելի պայմաններում դիտվել է գրգռիչ և ճնշող ազդեցությունների նվազում, մինչդեռ մելանինի կիրառությունից հետո դրանք զգալիորեն աճել են: ԱՀ-ի մոդելի դեպքում գործողության պոտենցիալների հաճախականությունը բարձրացել

է 2–3 անգամ, իսկ մելանինի կիրառման արդյունքում նվազել է ն մոտեցել չափաքանակի մակարդակին:

### **Study of the Impulse Activity of Basolateral Amygdala Neurons Under the Influence of Melanin in a Model of Alzheimer's Disease**

**A.S. Hovhannisyan, M.V. Poghosyan, H.Y. Stepanyan, R.Sh. Sargsyan, M.H. Danielyan, Z.A. Avetisyan, J.S. Sarkissian**

Alzheimer's disease (AD) is a chronic degenerative brain disease characterized by a sharp decrease in intellectual abilities. Currently, there are no ways to cure AD. Emotional behavior critically depends on the amygdala, an area of the temporal lobe that is affected by the accumulation of beta-amyloid and neurofibrillary tangles in the early stages of AD. In this work, the pulse activity of basolateral amygdala (BLA) neurons was studied in an amyloid model of Alzheimer's disease. The use of melanin as a therapeutic agent has also been investigated. In the AD model, the excitatory and depressor effects decreased, but increased after the use of melanin. In the AD model, the frequency of action potentials increased 2–3 times, but after the application of melanin, it decreased to normal levels.

#### **Литература**

1. *Alzheimer's Association*. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement.* 2016;12(4):459-509. doi: 10.1016/j.jalz.2016.03.001.
2. *Asmer MS., Kirkham J., Newton H., Ismail Z., Elbayoumi H., Leung RH., Seitz DP.* Meta-Analysis of the Prevalence of Major Depressive Disorder Among Older Adults With Dementia. *J Clin Psychiatry*, 2018;79(5):17r11772. doi: 10.4088/JCP.17r11772.
3. *Becker E., Orellana Rios CL., Lahmann C., Rücker G., Bauer J., Boeker M.* Anxiety as a risk factor of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Br J Psychiatry*. 2018;213(5):654-660. doi: 10.1192/bjp.2018.173. Erratum in: *Br J Psychiatry*. 2019;214(3):174. doi: 10.1192/bjp.2018.228.
4. *Chen P., Guarino PD., Dysken MW., Pallaki M., Asthana S., Llorente MD., Love S., Vertrees JE., Schellenberg GD., Sano M.* Neuropsychiatric Symptoms and Caregiver Burden in Individuals With Alzheimer's Disease: The TEAM-AD VA Cooperative Study. *J Geriatr Psychiatry Neurol.*, 2018;31(4):177-185. doi: 10.1177/0891988718783897.
5. *Dong XX., Wang Y., Qin ZH.* Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin.*, 2009;30(4):379-87. doi: 10.1038/aps.2009.24.
6. *España J., Giménez-Llort L., Valero J., Miñano A., Rábano A., Rodríguez-Alvarez J., LaFerla FM., Saura CA.* Intraneuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biol. Psychiatry*, 2010;67(6):513-21. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.06.015.

7. *Kikenny C., Browne W., Cuthill I.C., Emerson M., Altman D.G.* Animal research: Reporting in vivo experiments: The ARRIVE guidelines 06 July 2010.
8. *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.
9. *Matthew R.H., Heather L.S., Peter R.D.* Glutamate-mediated excitotoxicity and neurodegeneration in Alzheimer's disease *NCI* 2004;45(Issue 5):583–595.
10. *Olney J.W.* Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science*, 1969;164:19-21.
11. *Orlov A. I.* *Applied Statistics, Moscow: Ekzamen Publ., 2004, p.656 (in Russian).*
12. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates Elsevier, Academic Press, 5th ed., 2005; p. 367.
13. *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).
14. *Winblad B., Amouyel P., Andrieu S., Ballard C., Brayne C., Brodaty H., Cedazo-Minguez A., Dubois B., Edvardsson D., Feldman H., Fratiglioni L., Frisoni GB., Gauthier S., Georges J., Graff C., Iqbal K., Jessen F., Johansson G., Jönsson L., Kivipelto M., Knapp M., Mangialasche F., Melis R., Nordberg A., Rikkert MO., Qiu C., Sakmar TP., Scheltens P., Schneider LS., Sperling R., Tjernberg LO., Waldemar G., Wimo A., Zetterberg H.* Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol.*, 2016;15(5):455-532. doi: 10.1016/S1474-4422(16)00062-4.