



# Биологическая модель зebraданио в исследовании болезни Альцгеймера

Бондаренко П.В., Исаева Ю.К., Покровская Е.Д.

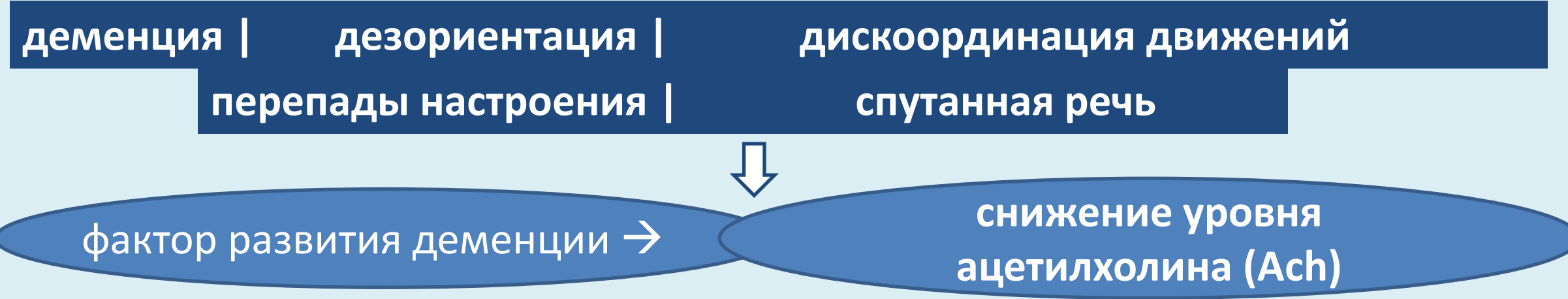
Научный руководитель: доц. каф. биологии, к.б.н. Лашенцова Л.И.

Научный консультант: зав. лаб. клеточных технологий НЦИЛС, д.б.н. проф. Перфилова В.Н.

Лаборатория клеточных технологий НЦИЛС, кафедра биологии Волгоградского государственного медицинского университета

## Введение

**Болезнь Альцгеймера (БА) - хроническое нейродегенеративное заболевание, развивающееся с возрастом**

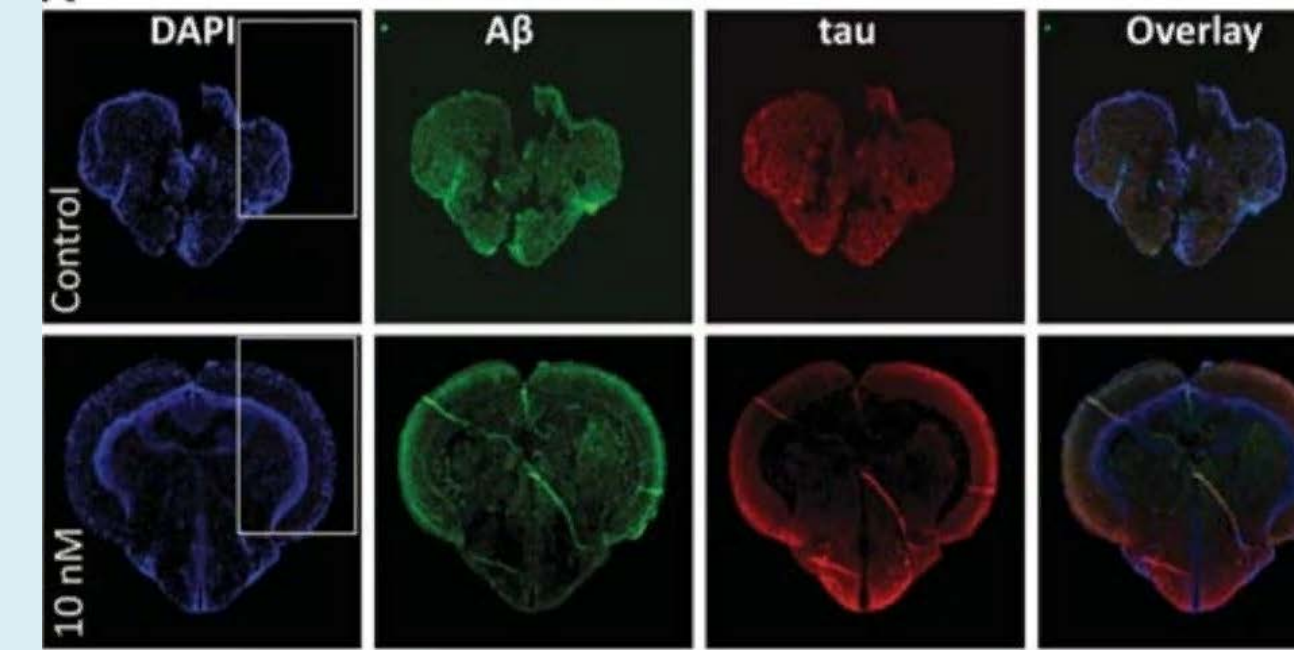


Морфологические признаки БА - мутации в белке-предшественнике β-амилоида (APP) и в пресенилинах 1 и 2, усиливающие образование β-амилоида, обычно откладывающегося в виде сенильных бляшек в паренхиме головного мозга и церебральных сосудов, а также отложения нейрофибриллярных клубков из гиперфосфорилированного тау-белка, которые приводят к потере синаптических и нейронных связей [1, 6].

Постепенно учёные перестают проводить эксперименты на грызунах и следуют концепции трёх R: замена (Replacement), сокращение (Reduction) и усовершенствование (Refinement), которые устанавливают принципы более этичного использования животных. Всё больше внимания уделяется биологической модели - зebraданио, эти пресноводные рыбы не требуют высоких затрат в содержании, их изучение возможно с раннего эмбриогенеза до глубокой старости, и живут в лаборатории они гораздо дольше, чем, например, мыши.

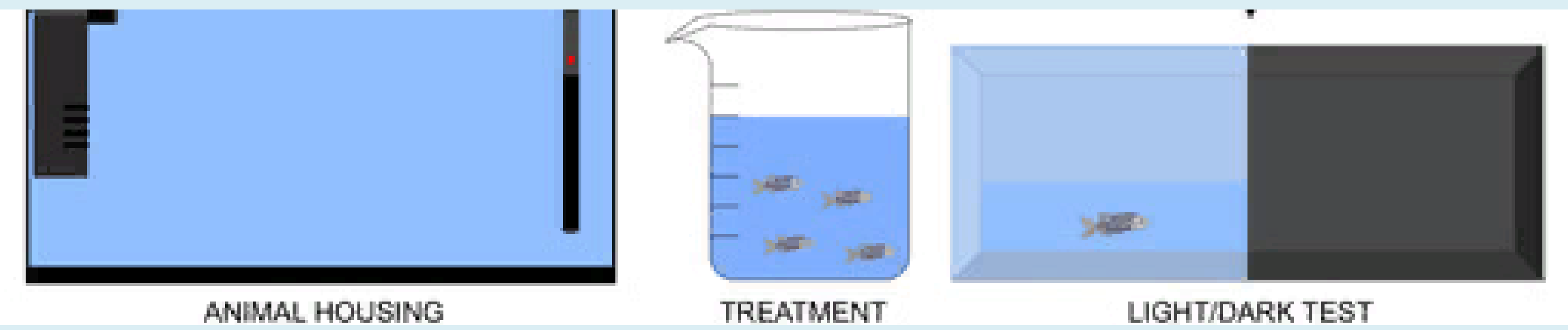
**Целью** нашей работы является рассмотрение возможности моделирования БА у зebraданио с перспективой последующей фармакологической коррекции.

Моделирование БА также осуществляется с использованием окадаиковой кислоты (ОКА) при помещении рыб в резервуар с заданной концентрацией вещества. В экспериментах были зафиксированы основные морфологические признаки исследуемой патологии в мозге: скопления β-амилоида, тау-белка и микро-кровоотечения, возникающие на поздних стадиях БА [4].



Влияние ОКА на экспрессию Аβ-фрагмента и тау-белков и образование бляшек на срезах мозга зebraданио. Аβ-фрагментное антитело (зеленое), тау-белок-антитело (красное) и Amylo G10 (синее) и наложенные изображения.

Фармакологическая коррекция экспериментальных патологий может проводиться хронически при добавлении препарата в воду домашнего резервуара в течение нескольких дней или остро – с погружением рыбок на непродолжительное время в емкость с веществом.



## Материалы и методы



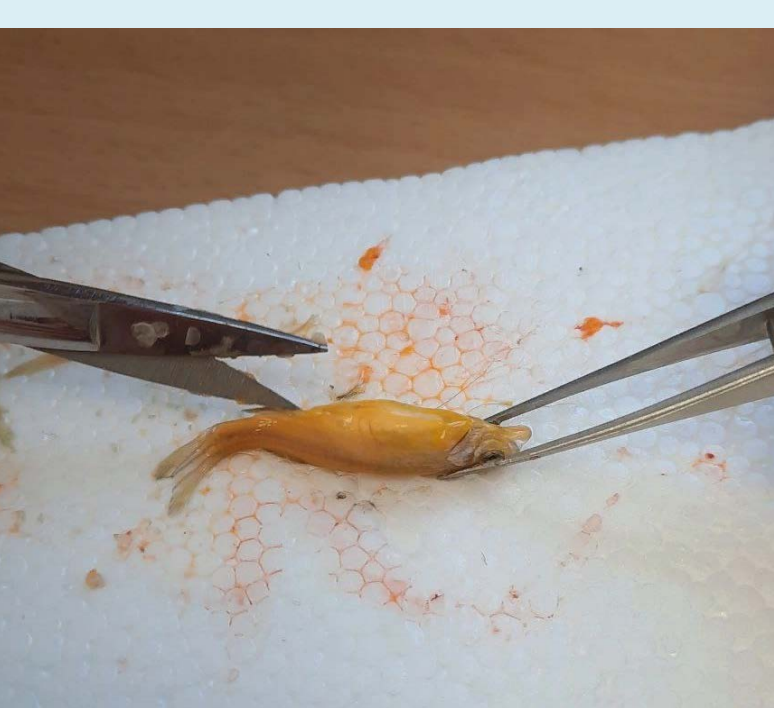
• Анализ литературных данных о преимуществе использования зebraданио для моделирования альцгеймеровской деменции и возможности применения фармакологических субстанций для коррекции отклонений;

• Моделирование БА путем помещения рыб в резервуар с раствором скополамина в концентрации 100 μM на 30 минут [3];

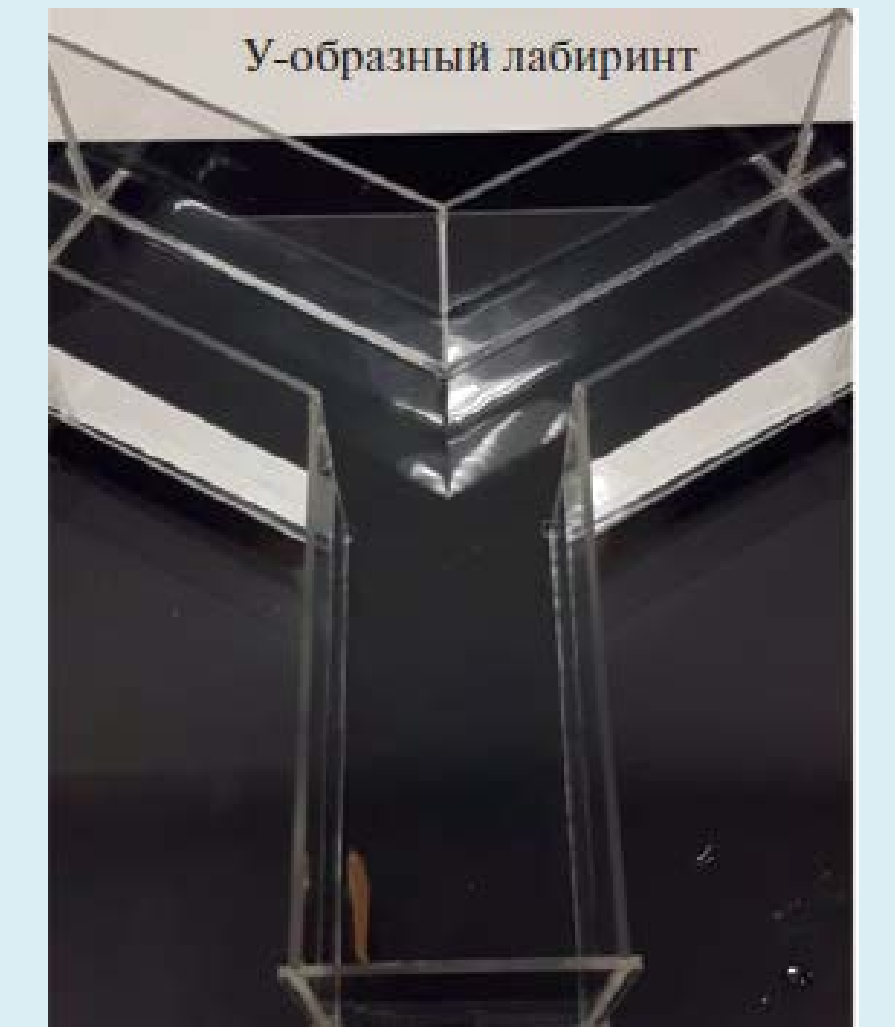
• Анестезия зebraданио при помещении на 5-10 секунд в ледяную воду;

• Отсечение головы, вскрытие черепно-мозговой коробки, извлечение головного мозга;

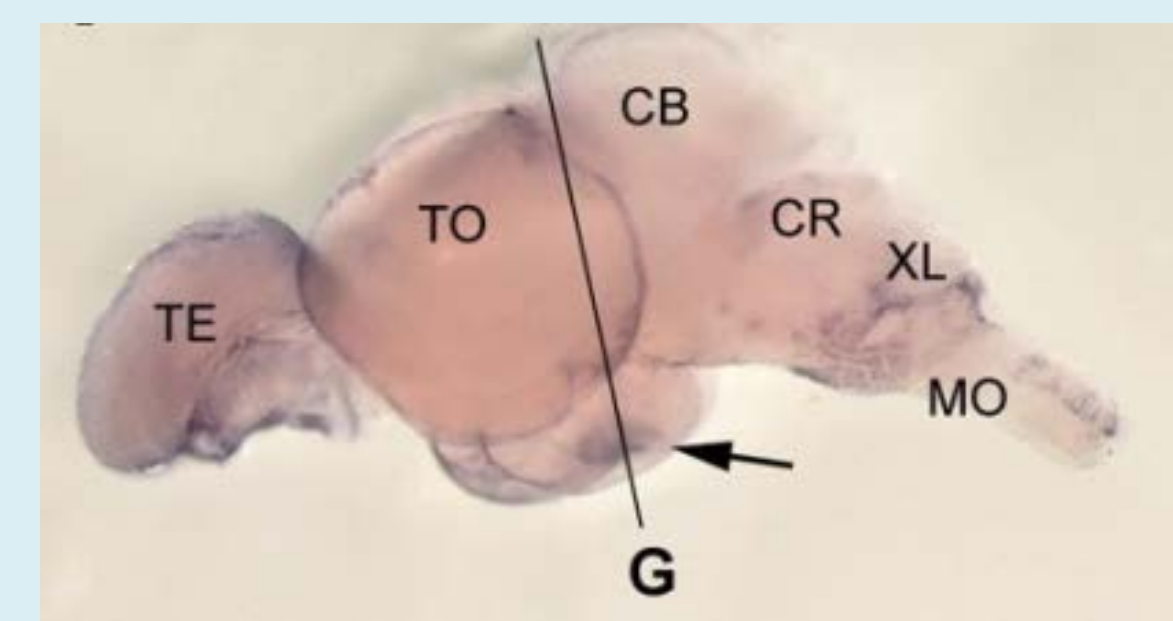
• Изготовление микропрепаратов для морфологической оценки структур головного мозга.



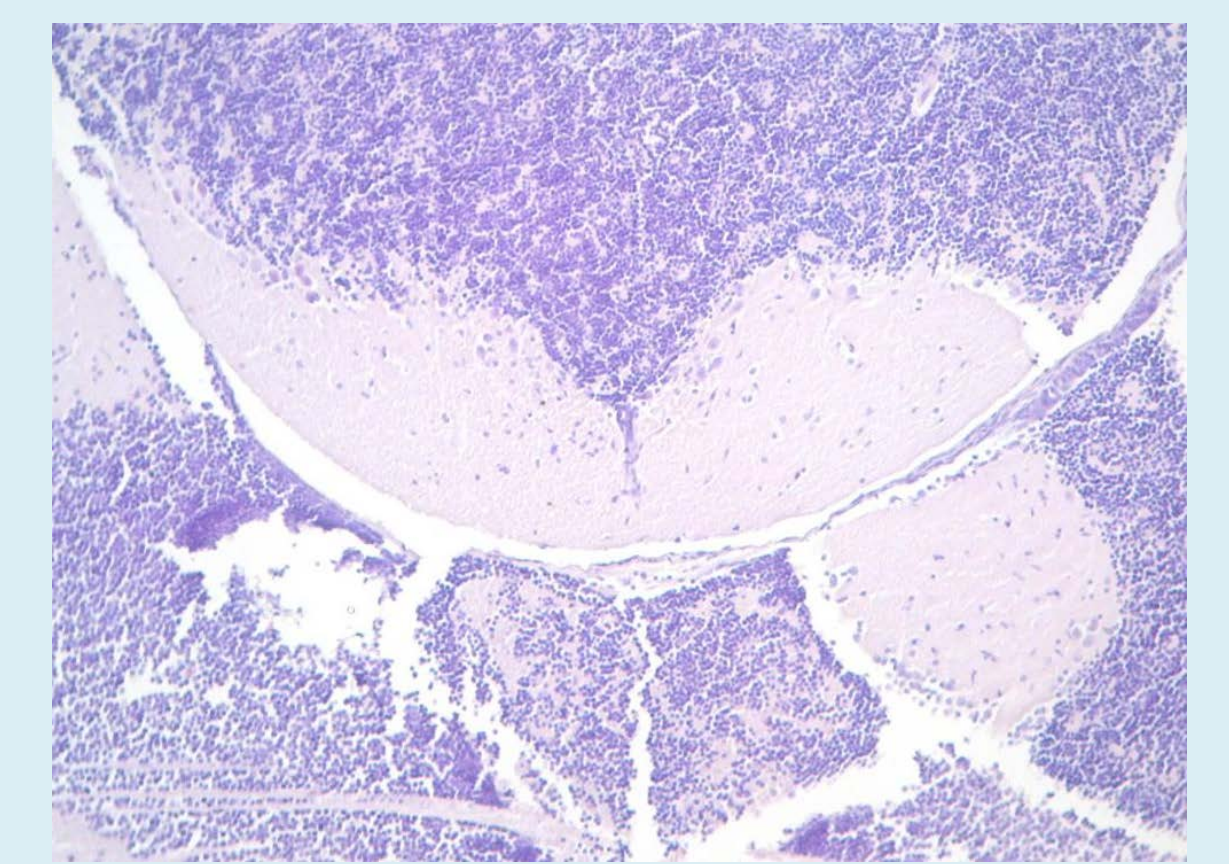
В экспериментах исследовалось влияние роифолина - флавонового гликозида на когнитивные функции зebraданио с экспериментальной БА, вызванной введением скополамина. Изучали характер плавания рыб, поведение в Y-образном лабиринте, производительность памяти в тесте на распознавание объектов. В группах животных, получавших препарат, отмечался антиоксидантный, анксиолитический эффект, снижение дефицита памяти [3].



Для оценки морфофункциональных изменений делают срезы мозга с дальнейшим микроскопическим анализом. На данном этапе мы отработываем методику извлечения мозга и изготовления срезов с последующим окрашиванием гематоксилин-эозином для визуализации клеток у рыб с БА, вызванной скополамином.



Отделы мозга зebraданио: TE) Telencephalon (конечный мозг); TO) tectum opticum (аналогично верхнему двуххолмью млекопитающих) – первичный зрительный центр; CB) corpus cerebelli (тело мозжечка); CR) креста мозжечка; XL) большая доля; MO) продолговатый мозг; Стрелка) Гипоталамус.



Поперечный срез головного мозга

## Результаты

У зebraданио обнаружены гены ортологи и коортологи человека, которые играют важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера [7].

Выявлено, что гены *ACHE* и *PPARGC1B* снижались при физиологическом старении, наблюдалось нарушение когнитивных функций [2].

psen1, psen2, appa и appb, bace1 и bace2, mapta и maptb



PSEN1 и PSEN2, APP, BACE1 и BACE2, MAPT



При проведении вестер-блоттинга ткани мозга у рыб разного возраста определяют содержание белков, участвующих в синаптической передаче и являющихся маркерами целостности возбуждающих и тормозных синапсов [5].



## Выводы

Зebraданио являются универсальным модельным объектом для изучения механизмов болезни Альцгеймера и тестирования потенциальных терапевтических средств. Описанные модели являются валидными, так как обнаруживают сходство с проявлениями БА у человека и успешно подвергаются фармакологической коррекции.

Планируются дальнейшие исследования по изучению влияния производных ГАМК на изменение структур головного мозга и когнитивные функции рыб с экспериментальной альцгеймеровской патологией.

## Литература

- Сальков В. Н., Художков Р. М. Роль алюминия и свинца в развитии болезней Альцгеймера и Паркинсона // Архив патологии. - 2021. Т. 83. - № 3. - С. 56-61.
- Arslan-Ergul A., Adams M. M. Gene expression changes in aging zebrafish (Danio rerio) brains are sexually dimorphic // BMC neuroscience. - 2014. - Т. 15. - №. 1. - С. 1-11.
- Brinza I. et al. Ameliorative effects of rhoifolin in scopolamine-induced amnesic zebrafish (Danio rerio) model // Antioxidants. - 2020. - Т. 9. - №. 7. - С. 580.
- E Nada S., E Williams F., A Shah Z. Development of a novel and robust pharmacological model of okadaic acid-induced Alzheimer's disease in zebrafish // CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders). - 2016. - Т. 15. - №. 1. - С. 86-94.
- Karoglu E. T. et al. Aging alters the molecular dynamics of synapses in a sexually dimorphic pattern in zebrafish (Danio rerio) // Neurobiology of aging. - 2017. - Т. 54. - С. 10-21 Kesh S., Kannan.
- Moloney, C. M., Lowe, V. J., and Murray, M. E. (2021). Visualization of neurofibrillary tangle maturity in Alzheimer's disease: a clinicopathologic perspective for biomarker research. *Alzheimers Dement.*
- Newman M., Ebrahimie E., Lardelli M. Using the zebrafish model for Alzheimer's disease research // Frontiers in genetics. - 2014. - Т. 5. - С. 189).