

MEDICAL AND BIOLOGICAL RESEARCH

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-111-4-26>

НАСЛІДКИ ВПЛИВУ ОЛІГОМЕРНОГО ПЕПТИДУ 1-42 НА ДОКІНГ СИНАПТИЧНІ ВЕЗИКУЛИ

Белінська А. М.

студент

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

Новікова І. П.

асистент

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

Трикаш І. О.

кандидат біологічних наук,

старший науковий співробітник

Інститут біохімії імені О. В. Палладіна

Національної академії наук України

м. Київ, Україна

Хвороба Альцгеймера, також сенільна деменція Альцгеймерівського типу – це хронічне нейродегенеративне захворювання, яке прогресує в повільному темпі й поступово знищує клітини мозку. Воно є найбільш поширеним видом деменції й складає близько 60-65 % від усіх випадків. На ранніх стадіях дуже важко ідентифікувати будь-які симптоми захворювання. Першою ознакою патології є втрата короточасної пам'яті [1, с. 640]. Прогресування хвороби включає такі симптоми: проблеми з мовленням, погане орієнтування в часі, повторення однакових питань та постійне уточнення вже відомої інформації, проблеми з веденням діалогу, координацією рухів, перепади настрою, втрату мотивації, людина перестає доглядати за собою та страждає від поведінкових проблем [2, с. 197, 5. с. 918].

Основними причинами хвороби Альцгеймера можуть бути травми (психологічні, черепно-мозкові), специфічні реакції імунітету, закупорка бета-амілоїдного (АВ) пептиду, вплив токсичних речовин, хромосомні порушення, зниження рівня ацетилхоліну, киснева

недостатність, спадкова схильність, [3. с. 590, 6. с. 512]. Вченими було виявлено, що найчастіше, причиною захворювання є відкладення бляшок та закупорка бета-амілоїдного ($A\beta$) пептиду 1-42 в мозку [4 с. 20]. На сьогодні не відомі жодні дієві засоби, які можуть вплинути на розвиток хвороби, тому це питання є найбільш актуальне в даний час.

Мета роботи: оцінити вплив мономерів та олігомерів бета-амілоїдного пептиду 1-42 на агрегацію синаптичних везикул (SV).

Завдання:

Отримати синаптосоми з головного мозку щурів;

Виділити синаптичні везикули;

Оцінити розмір отриманих везикул методом лазерно-кореляційної спектроскопії;

Синтез мономерів та олігомерів бета-амілоїдного пептиду 1-42;

Оцінити вплив мономерної та олігомерної форми бета-амілоїдного пептиду 1-42 на докінг у безклітинній системі.

Синаптичні везикули з півкуль головного мозку отримували з ізольованих нервових кінцівок головного мозку (синаптосом) шляхом гіпоосмотичного шоку з модифікаціями. Діаметри частинок у суспензії синаптичних везикул вимірювали методом лазерно – кореляційної спектроскопії (ЛКС), що дозволяє виміряти розподіл частинок за розміром будь-якої форми в діапазоні субмікрометрів, за допомогою спектрометра Malvern 4700 Zetasizer-3. Статистичну обробку результатів проводили загальноприйнятим методом варіаційної статистики з визначенням середніх арифметичних величин (M), відхилень кожної виміряної величини від M (a), величин квадратних відхилень для кожної групи (σ), середньої похибки (m), коефіцієнта Стюдента t і ступеня вірогідності різниці між величинами P . Достовірними вважали результати, для яких $P \geq 0,05$.

Використовуючи метод DLS, було виявлено збільшення частинок від 50 нм до 325 нм у присутності цитозолу. Це можна пояснити кластеризацією синаптичних везикул, яка починається після додавання цитозольних білків синаптосоми і закінчується формуванням агрегатів, більших за 300 нм протягом приблизно 10 хвилин. Спостереження за розміром частинок DLS вказує на те, що в популяції з'являються дуже великі частинки, що говорить про взаємодію декількох синаптичних везикул. Отже, цитозольні білки синаптосоми можуть відповідати за агрегацію синаптичних везикул. Таким чином, цитозольні білки можуть сприяти розвитку синаптичних везикул в безпосередній близькості, і вони стають стійко пов'язаними або стикованими.

Розподіл синаптичних везикул за розміром (контрольної та дослідної груп) не змінювався під дією мономерних форм пептидів Аβ 1-40 та Аβ 1-42. Збільшення часу інкубації (30, 45 та 60 хв) мономерів пептидів з синаптичними везикулами в системі, що досліджувалась, не приводило до зміни розподілу часток за розміром в порівнянні з контролем. Отже, ми можемо стверджувати, що в безклітинній системі мономерні пептиди Аβ 1-40 та Аβ 1-42 в концентрації 1 мкм не викликають змін в процесі агрегації або докінгу синаптичних везикул.

Олігомерні форми Аβ пептидів 1-40 та 1-42 в буферному розчині незначно активували процес агрегації синаптичних везикул в препаратах, що були отримані з головного мозку.

Найцікавішими результатами були при дослідженні дії пептиду Аβ 1-42 на агрегацію синаптичних везикул в середовищі цитозольних протеїнів синапсосом. Після преінкубації контрольних синаптичних везикул з олігомерною формою амілоїдного пептиду 1-42 їх здатність до агрегації в середовищі протеїнів зростає і збільшується кількість часток діаметром 400 нм. Популяція частинок із середнім розміром близько 50 нм зменшилась. Було виявлено значне збільшення часток від 50 нм до 325 нм у присутності цитозолу. Це можна пояснити кластеризацією синаптичних везикул, яка ініціюється при додаванні цитозольних білків синапсосом і в кінцевому підсумку утворює агрегати більше 300 нм протягом приблизно 10 хвилин.

Спостереження за розмірами частинок за допомогою ЛКС вказує на те, що в популяції з'являються дуже великі частинки, що передбачає взаємодію множинних синаптичних везикул. Цитозольні білки синапсосом можуть бути відповідальними за агрегацію везикул. Ми виявили, що кластеризація синаптичних везикул, етап, який передує їх злиттю один з одним або з плазматичною мембраною, був посилений олігомерами β1-42. Кластеризація SV за допомогою Аβ негативно корелювала з готовністю SV до злиття.

Отже, з вище зазначеного можна зробити висновок, що мономерні пептиди суттєво не впливають на агрегацію синаптичних везикул. Олігомери Аβ пептидів, можуть зв'язуватися з плазматичною мембраною синапсів, проникати в бішар, що призводить до зміни її проникності. Олігомерний пептид Аβ 1-42 може викликати Ca²⁺ залежне вивільнення глутамату з астроцитів, що сприяє збільшенню позаклітинного глутамату в мозку. Є підстава вважати, що порушення процесу нейротрансмісії внаслідок дії пептиду є початковим етапом втрати функцій нейронів та їх подальшої загибелі.

Тому, отримані результати можуть бути корисними для дослідження нових препаратів, що діють на передачі нервового імпульсу та використаними для лікування Хвороби Альцгеймера.

Література:

1. Reitz C., Mayeux R. Хвороба Альцгеймера: епідеміологія, діагностичні критерії, фактори ризику та біомарки. Біохімічна фармакологія, 2014. С. 640–651.
2. Backman L., Jones S., Berger A.-K., Laukka, E. and Small, B. Множинні когнітивні дефіцити під час переходу до хвороби Альцгеймера. Журнал внутрішньої медицини, 2004. С. 195–204.
3. Шердова К., Хорт Ж., Русіна Р., Бартош А., Лінек В., Реснер П., Ректорова І. Рекомендації щодо діагностики та лікування хвороби Альцгеймера та інших порушень, пов'язаних з деменцією. Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie, 2007 С. 589–594.
4. Гостіл М., Робінсон С. Фізіологічні ролі пептиду амілоїду- β натякають на нові способи лікування хвороби Альцгеймера. Межі старечої нейронауки. Frontiers Media SA, 10, 2018 – 118 с.
5. Тодд, С., Барр, С., Робертс, М. та Пасмор, А. П. (2013). Вживання при деменції та прогнози смертності: огляд. Міжнародний журнал геріатричної психіатрії, 2013. С. 1109-1124.
6. Талер, В. і Філіпс, Н. А. (2008). Мовна ефективність хвороби Альцгеймера та легких когнітивних порушень: порівняльний огляд. Журнал клінічної та експериментальної нейропсихології, 2008. С. 501–556.