

УДК 616.892.32-07
DOI: 10.36979/1694-500X-2023-23-1-62-66

НОВЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ РАННЕЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

А.К. Канатова, А.Г. Кошмурастов

Аннотация. Ученые всего мира ведут активный поиск новых методов диагностики, лечения и предотвращения болезни Альцгеймера. Одним из таких открытий стало новейшее исследование шведских ученых, которые применили новую технологию объемного иммунного окрашивания и очистки iDISCO+ в сочетании со световой флуоресцентной микроскопией (LSFM) для изучения области мозга человека в трех измерениях с клеточным разрешением. Этой областью стало голубое пятно и окружающие его структуры, которое называется комплексом LC/PC (*locus coeruleus/pericoeruleus complex* – голубого пятна/перисерулярного комплекса). Подробно изучив, ученые охарактеризовали эту область, где раньше всего накапливается тау-протеин, который является биомаркером болезни Альцгеймера на ранней стадии. Результаты исследования способствуют новому пониманию процессов нейродегенерации головного мозга, что может стать хорошим началом других открытий в лечении болезни Альцгеймера.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера; голубое пятно; тау-белок; деменция; память.

АЛЬЦГЕЙМЕР ООРУСУНУН АЛГАЧКЫ БАСКЫЧЫН АНЫКТООНУН ЖАҢЫ ЫКМАСЫ

А.К. Канатова, А.Г. Кошмурастов

Аннотация. Дүйнө жүзүндөгү окумуштуулар Альцгеймер оорусун аныктоонун, дарылоонун жана алдын алуунун жаңы ыкмаларын активдүү издөөдө. Бул ачылыштардын бири швед окумуштууларынын акыркы изилдөөсү, алар жаңы iDISCO+ көлөмдүү иммундук боёк жана тазалоо технологиясын жарык флуоресценттик микроскопия (LSFM) менен айкалыштырып адам мээсинин аймагын клеткалык резолюция менен үч өлчөмдө изилдөө үчүн колдонушкан. Бул аймак LC/PC комплекси (*locus coeruleus / pericoeruleus* комплекси – көк так / перисерулярдык комплекс) деп аталуучу *locus coeruleus* жана аны курчап турган түзүмдөр болуп калды. Илимпоздор кеңири изилдеп чыккандан кийин, биринчи Альцгеймер оорусунун биомаркери болгон тау-протеини топтоло турган бул аймакты мүнөздөштү. Изилдөөнүн натыйжалары мээнин нейродегенерация процесстерин жаңыча түшүнүүгө өбөлгө түзүп, Альцгеймер оорусун дарылоодогу башка ачылыштардын жакшы башталышы боло алат.

Түйүндүү сөздөр: Альцгеймер оорусу; көк так; тау-белок; деменция; эс тутум.

NEW METHOD OF DIAGNOSTICS AT EARLY STAGES OF ALZHEIMER'S DISEASE

A.K. Kanatova, A.G. Koshmuratov

Abstract. Scientists around the world are actively searching for new methods of diagnostics, treatment and prevention of Alzheimer's disease. One of these discoveries is the latest study by Swedish scientists who applied the new iDISCO+ volume immunostaining and clearing process in combination with light sheet fluorescence microscopy (LSFM) to study a region of the human brain in three dimensions with cellular resolution. This area became the locus coeruleus and surrounding structures, which is called the LC/PC complex (*locus coeruleus/pericoeruleus complex* – blue spo pericoerulear complex). Having studied in detail, scientists have characterized this area where tau protein, which is a biomarker for early Alzheimer's disease, accumulates first. The results of the study contribute to a new understanding of the processes of brain neurodegeneration, which may be a good start for other discoveries in the treatment of Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer's disease; locus coeruleus; tau-protein; dementia; memory.

Введение. Голубое пятно (лат. *locus coeruleus* – LC) – участок голубоватого цвета, расположенный в стволе мозга, в задней ростральной части моста, на уровне дна IV желудочка, с широкой проекцией в верхние слои коры больших полушарий, миндалину, гиппокамп, перегородку, стриатуму (хвостатое ядро и скорлупа), кору мозжечка, а также нисходящие проекции в спинной мозг. Гранулы меланина внутри нейронов образуются путём полимеризации норадреналина, которые придают ему голубоватый оттенок. При активации голубого пятна развивается фаза быстрого сна; также оно участвует в формировании физиологической реакции на тревогу и напряжение, повышая устойчивость организма к стрессу; в избирательном внимании, мотивации, эмоциональном обучении. Большинство нейронов голубого пятна – норадренергические, но оно также может высвобождать дофамин для стимуляции долговременной памяти через гиппокамп.

Голубое пятно функционально связано с чувствительными ядрами некоторых черепно-мозговых нервов, таких как тройничный, языкоглоточный и блуждающий нервы. Вместе они составляют основную структуру ствола мозга, обеспечивающую гомеостаз, который поддерживает постоянство внутренней среды организма, что связано со способностью реагировать на изменение газового состава крови и ликвора, а также нейрогуморальную регуляцию состава внутренней среды организма.

Тем не менее голубое пятно является «местным пятном резистентности» при некоторых нейродегенеративных заболеваниях, включая болезнь Альцгеймера (БА), где потеря нейронов голубого пятна фактически более выражена, чем потеря холинергических нейронов в базальном ядре Мейнерта. Некоторые продромальные симптомы БА (такие как нарушения сна, тревога и депрессия) согласуются с дисфункцией LC.

Болезнь Альцгеймера – наиболее распространенный тип деменции, состояния, при котором головной мозг перестает выполнять свои функции должным образом. Болезнь Альцгеймера вызывает проблемы с памятью, мышлением и поведением. На ранней стадии симптомы деменции могут быть минимальными, но по мере

того, как болезнь оказывает все большее влияние на мозг, симптомы ухудшаются. Скорость, с которой болезнь прогрессирует, индивидуальна для каждого, но средняя продолжительность жизни после установления диагноза составляет восемь лет.

В настоящий момент не существует лечения, которое могло бы остановить развитие болезни Альцгеймера, есть лекарства, смягчающие симптомы деменции. В прошедшие три десятилетия исследования в области деменции позволили глубже понять, как болезнь Альцгеймера влияет на работу мозга. Сегодня исследователи продолжают искать более эффективные способы лечения, а также меры, которые могли бы предотвратить болезнь Альцгеймера и улучшить здоровье мозга [1].

Существуют следующие формы деменции: сосудистая деменция, болезнь Альцгеймера, деменция с тельцами Леви, а также группа болезней, способствующих развитию лобно-височной деменции. Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной формой, на которую приходится 60–70 % всех случаев.

По оценкам ВОЗ, в 2021 г. число людей, страдающих деменцией, было более 55 млн человек (женщины – 8,1 % и мужчины – 5,4 % в возрасте старше 65 лет). К 2030 г. ожидается рост этого показателя до 78 млн человек, а к 2050 г. – до 139 млн. Почти 60 % людей, страдающих деменцией, живут в странах с низким и средним уровнем дохода. Ежегодно выявляются около 10 млн новых случаев заболевания [2].

Люди, страдающие деменцией на средней и поздней стадии, становятся недееспособными. В связи с этим на расходы на лечение, уход и т. д. приходится существенная часть экономического бремени. Согласно расчетам мировой экономики, в 2019 г. на расходы, связанные с деменцией, было потрачено около 1,3 трлн долл. США. К 2030 г. ожидается увеличение этой суммы до 1,7 трлн долл. США, а с поправкой на рост расходов на оказание помощи – до 2,8 трлн долл. США [3].

Если в 2009 г. болезнь Альцгеймера занимала 11-е место среди основных заболеваний, приводящих к смерти, то в 2019 г. она вошла

в десятку основных причин всех смертей, и заняла 9-е место [4].

В **этиопатогенезе** выделяют 4 гипотезы:

Самой первой предложенной гипотезой была **холинергическая гипотеза**, в которой причиной являлся сниженный синтез ацетилхолина, что в настоящее время считается маловероятным, так как медикаменты, корректирующие недостаток ацетилхолина, имеют небольшую эффективность, но благодаря ей существуют нынешние способы поддерживающей терапии.

Второй по очередности, в 1991 г., была предложена **амилоидная гипотеза**, в которой причиной указывалось отложение бета-амилоида. На 21-й хромосоме расположен ген, кодирующий белок (APP), из которого образуется бета-амилоид. Еще до появления первых симптомов болезни Альцгеймера, основной его генетический фактор риска – APOE4, приводит к избыточному накоплению амилоида в тканях мозга. Экспериментальная вакцина, предложенная на ранних испытаниях, показала способность уменьшить размеры бета-амилоидных бляшек в тканях мозга, что замедляет снижение когнитивных функций, но она оказалась неэффективной в лечении деменции. Амилоидная гипотеза считается не причиной болезни, а триггером, запускающим нейродегенеративный процесс.

Согласно третьей теории, которой является **тау-гипотеза**, причиной являются отклонения в структуре тау-белка, где нити гиперфосфорилированного тау-белка объединяются, формируя нейрофибриллярные клубки внутри нервных клеток, ведущие к дисфункции биохимической передачи сигналов, что приводит к гибели нервных клеток.

В последние годы одной из предполагаемых гипотез выступает **инфекционная гипотеза**. В одном из исследований Луисвиллского института, в мозге людей, погибших от болезни Альцгеймера, ученые обнаружили возбудитель периодонтита – *Porphyromonas gingivalis*. В другом экспериментальном исследовании на мышах эта инфекция приводила к колонизации бактерий и избыточному накоплению бета-амилоида в мозге, что также ассоциируется с болезнью Альцгеймера.

В патофизиологии болезни идет гибель нейронов и синапсов в коре головного мозга и определенных субкортикальных областях, что приводит к выраженной атрофии поражённых участков. В тканях мозга накапливаются ненормально свернутые протеины бета-амилоида и тау-протеина. Амилоидные бляшки формируются из бета-амилоидов, являющихся фрагментом белка-предшественника – APP, который играет важную роль в росте и восстановлении нейрона. Отложения нарушают гомеостаз ионов кальция в клетке и провоцируют апоптоз. Тау-белок избыточно подвергается фосфорилированию, приводя к агрегации нитей белка, что образует нейрофибриллярные клубки и разрушает нейрональную транспортную систему, блокируя продвижение полезных веществ и других продуктов жизнедеятельности клетки, что приводит к ее гибели.

Учитывая существование ранней формы болезни Альцгеймера, что является редкостью, известны 3 аутосомно-доминантных мутационных гена – APOE, PSEN1 (пресенилин 1) и PSEN2 (пресенилин 2). На данный момент APOE считается наиболее выраженным генетическим фактором риска развития ранней стадии болезни [5].

Диагностика складывается из анамнеза болезни и анамнеза жизни пациента; беседа с членами семьи также может предоставить важную информацию о повседневной активности пациента и времени снижения его мыслительных способностей, так как сам пациент обычно не замечает нарушений, а также клинических симптомов, неврологического статуса, нейропсихологических тестов, методов нейровизуализации (компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография или позитронно-эмиссионная томография), иногда посмертного гистопатологического анализа тканей мозга.

Согласно критериям Американского национального института неврологических и коммуникативных расстройств и инсульта (NINDS) и Ассоциации болезни Альцгеймера для постановки диагноза требуется подтвердить наличие когнитивных нарушений и деменции с помощью нейропсихологического тестирования, а гистопатологический анализ тканей мозга необходим для окончательного подтверждения

диагноза. Для оценки когнитивных нарушений чаще всего используют нейропсихологический тест MMSE (Mini-Mental State Examination). При доступности однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (СПЕКТ-визуализации) и позитронно-эмиссионной томографии (ПЕТ-визуализации) их можно использовать для подтверждения диагноза болезни.

Созданное в Питтсбургском университете органическое соединение под названием «Питтсбургский состав В» (Pittsburgh compound В, или РiВ), дает возможность увидеть отложения бета-амилоида в мозге живых людей, связывая их с амилоидными отложениями при введении в организм. С помощью ПЭТ-сканера радиоактивный изотоп углерод-11 короткого действия в соединении с амилоидными отложениями позволяет определять распределение этого вещества в организме и получать картину амилоидных отложений в мозге больного. Полученная картина с помощью этого соединения, при томографии живого пациента с болезнью Альцгеймера показывает ту же картину отложения вещества в тех же областях, что при вскрытии.

Два новых метода находятся на стадии разработки новых диагностических критериев, где содержание бета-амилоида и тау-белка в спинномозговой жидкости может быть объективным маркером болезни.

Ученые Каролинского института SciLifeLab в Стокгольме, а также других университетов Канады, Венгрии, Франции и Германии в новом исследовании применили технологию объемного иммунного окрашивания и очистки iDISCO+ в сочетании со световой флуоресцентной микроскопией (LSFM) для изучения цитоархитектоники и патологии тау-цитоскелета комплекса LC/PC (*locus coeruleus/pericoeruleus complex* – голубого пятна/перисерулярного комплекса) человека в трех измерениях с клеточным разрешением, где раньше всего накапливается тау-протеин [6].

Используя посмертное исследование мозга людей, страдающих различными стадиями болезни Альцгеймера от стадии 0 до стадии 6 NFT по Брааку, с коротким временем после смерти, отсутствием патологии α -синуклеина и посмертной перфузионной фиксацией мозга выполнили

всестороннюю трехмерную визуализацию и подробный анализ не только тел клеток AT8+, но также их дендритов и аксонов. Стадия Браака – это полуколичественная мера тяжести патологии нейрофибриллярных клубков (НФТ, или NFT). Согласно описанию стадии болезни Альцгеймера по Брааку: I и II стадии описывают пораженные нейрофибриллярные клубки, которые ограничены, в основном, трансэнториальной областью мозга, в III и IV стадиях вовлекается лимбическая система, а в V и VI стадиях идет обширное поражение неокортекса.

Исследователи обнаружили интересные, ранее не описанные, характеристики тау-патологии LC уже на ранних стадиях болезни Альцгеймера, где все находки указывали на то, что отправной точкой патологии тау в комплексе LC/PC является ядро LC, которое выступает местом раннего накопления и транснейронального распространения гиперфосфорилированного тау.

Описали новые морфологии нейрональной тау-патологии, такие как клетки AT8+ с тонкими филаментными соматическими выпячиваниями или с распадающейся сомой. Продемонстрировали гетерогенность клеточных структур AT8+ в голубом пятне (LC), представляющих различные внутриклеточные стадии созревания нейрофибриллярных клубков и их разнообразные переходные формы, что, в целом, убедительно подтверждает представление о том, что NFT являются не статическими, а скорее *динамически* поражениями нейронов.

Первый морфологический признак дегенерации тау-содержащих нейронов голубого пятна – *постепенная атрофия* дендритов, предшествующие поражению аксонов.

Независимо от стадии Braak NFT, тау-патология *более выражена в дорсальном* сегменте, проецирующимся на гиппокамп или области неокортекса, по сравнению с вентральным сегментом ядра LC, проецирующаяся на мозжечок и продолговатый мозг. Более того, анализ показывает, что патология тау более развита в дорсальном сегменте не только с точки зрения объема окрашивания AT8+ и количества клеточных тел, но и состава клеточных структур AT8+.

Продемонстрировали неслучайное распределение тау-содержащих нейронов голубого

пятна с тенденцией к **кластеризации** клеток AT8+ в ядре LC уже на стадии Braak 0. Плотные (кластерные) клетки образовывали дуэты или минигруппы (обычно 3–4 клетки), которые часто состояли из непосредственно соседних гиперфосфорилированных тау-несущих нейронов в ядре LC, а также во всех других перисерулярных областях.

При ближайшем рассмотрении выявились дендро-дендритарные тесные связи между соседними плотными клетками AT8+, уже в стадии Braak 0, что согласуется с экспериментальной теорией на мышах о возможном распространении патологического тау-белка через нейронные отростки одного нейрона к другому [7].

Таким образом, плотно упакованная уникальная структура, состоящая из обширной дендритной нейронной сети с длинными отростками, делает человеческое голубое пятно идеальным анатомическим шаблоном для раннего накопления и транснейронального распространения гиперфосфорилированного тау.

Результаты исследования являются хорошей основой для более точной диагностики болезни даже на самых ранних стадиях болезни, в которых современная объемная визуализация в сочетании с иммуногистологическими и гистопатологическими методами, а также с новыми биохимическими подходами будут способствовать новому пониманию нейрофизиологии нейродегенеративных заболеваний головного мозга, с возможностью поиска лечения и разработки более эффективных стратегий профилактики болезни Альцгеймера в будущем.

Из известных нам профилактик, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует следовать обычным правилам здорового образа жизни, что может снизить риск развития деменции, которые включают регулярные занятия физическими упражнениями, исключение курения и употребления алкоголя, контроль веса, правильное питание и поддержание

нормального уровня артериального давления, холестерина и сахара в крови. Другие факторы риска включают депрессию, низкий уровень образования, социальную изоляцию и отсутствие когнитивной активности, что также можно корректировать для поддержания хорошего качества жизни.

Поступила: 24.12.22; рецензирована: 08.12.22; принята: 12.12.22.

Литература

1. What is Alzheimer's Disease? URL: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-alzheimers> (дата обращения: 28.11.2022).
2. Деменция. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (дата обращения: 2.12.2022).
3. Мировое сообщество не справляется с проблемой деменции. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/02-09-2021-world-failing-to-address-dementia-challenge> (дата обращения: 2.12.2022).
4. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. URL: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30925-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30925-9/fulltext) (дата обращения: 2.12.2022).
5. The Netter collection of Medical illustrations/ Frank H. Netter, MD/2nd Edition/Nervous system/Part I Brain/H. Royden Jones, Ted M. Burns, Michael J. Aminoff, Scott L. Pomeroy // Alzheimer Disease Pathology. 2013. С. 81–84 (дата обращения: 28.11.2022).
6. Spatiotemporal characterization of cellular tau pathology in the human locus coeruleus-pericoeruleus complex by three-dimensional imaging. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00401-022-02477-6> (дата обращения: 25.11.2022).
7. Spatiotemporal characterization of cellular tau pathology in the human locus coeruleus-pericoeruleus complex by three-dimensional imaging. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36040521/> (дата обращения: 25.11.2022).