

## Анотація

*Ганжа В.В.* Дослідження впливу нейропротективних та ушкоджуючих факторів на нейрони гіпокампа при хворобі Альцгеймера. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 «Біофізика». – Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ, 2020.

Хвороба Альцгеймера (ХА) є однією з найпоширеніших патологій, яка займає значний відсоток населення планети, але, на жаль, не піддається ефективному лікуванню. Основними нейропатологічними характеристиками цього захворювання є наявність у мозку пацієнтів характерних сенільних бляшок (основним структурним компонентом яких є білок  $\beta$ -амілоїд), агрегація філаментів тау-протеїну і формування нейрофібрилярних клубочків у нейронах, а також виражена дегенерація нейронів переважно в області гіпокампа.

Встановлення механізмів впливу  $\beta$ -амілоїду, який є основним патологічним маркером при хворобі Альцгеймера представляє безсумнівний інтерес та має практичне значення як для розуміння даного патогенезу, так і подальшого пошуку шляхів запобігання та лікування даного захворювання. Тому враховуючи те, що дана хвороба є дуже поширеною по всьому світі, і той факт, що вона є невиліковною, робить результати такого дослідження надзвичайно актуальними.

**Мета дослідження** – дослідити вплив нейропротективних та ушкоджуючих факторів на нейрони гіпокампа при моделюванні хвороби Альцгеймера.

### **Завдання дослідження:**

1. Відтворити модель хвороби Альцгеймера на культурі нейронів гіпокампа.
2. Дослідити вплив  $\beta$ -амілоїду на внутрішньоклітинний  $\text{Ca}^{2+}$  в нейронах гіпокампа.
3. Дослідити вплив гіперкальціємії на життєздатність нейронів гіпокампа і рівень внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ .

4. Дослідити вплив циклосприну, блокатору мітохондріальної пори на життєздатність нейронів при моделюванні ХА.
5. Дослідити вплив НМДА-рецепторів при моделюванні ХА.
6. Дослідити вплив блокатору НМДА-рецепторів мемантину на життєздатність нейронів при моделюванні ХА.
7. Дослідити вплив наночасток оксиду церію на життєздатність нейронів при моделюванні ХА.
- 8.

**Об'єкт дослідження** – життєздатність нейронів гіпокампа щурів, внутрішньоклітина канцентрація кальцію у нейронах гіпокампа

**Предмет дослідження** – зміна життєздатності нейронів гіпокампа в культурі, зміни концентрації кальцію в нейронах гіпокампа

**Методи дослідження**

- Метод приготування первинної дисоційованої культури нейронів гіпокампа щурів.
- Конфокальна мікроскопія для отримання флуоресцентних зображень для аналізу.
- Мікрофлуоресцентна кальциметрія.
- Статистичний аналіз отриманих результатів.

У дисертаційній роботі було показано вплив білка А $\beta$ 1–42-амілоїду на життєздатність нейронів культури гіпокампа. Також за допомогою конфокальної мікроскопії було досліджено вплив гіперкальціємії, НДЦ (нанокристалічного діоксиду церію), Мемантину та Циклоспорину А на життєздатність нейронів культури гіпокампа при моделюванні ХА з для встановлення їх нейропротективних властивостей. Досліджено захисні властивості неконкурентного низькоафінного антагоністу NMDA – рецепторів мемантину на життєздатність нейронів культури гіпокампа щура при моделюванні ексайтотоксичності та ХА. Мемантин в експериментальних умовах здійснював захисний ефект при ексайтотоксичності, викликаній додаванням NMDA в середовище культивування та при моделюванні ХА з А $\beta$ 1–42-амілоїдом.

За допомогою циклоспорину А встановлено, що мітохондріальна пора неспецифічної проникності задіяна у некротичній загибелі нейронів гіпокампа, що є одним із ключових нейротоксичних механізмів дії А $\beta$ 1–42-амілоїда під час розвитку та перебігу хвороби Альцгеймера.

За допомогою методу флуоресцентної кальциметрії було досліджено зміни внутрішньоклітинного кальцію та ролі ендоплазматичного ретикулуму культивованих нейронах культури гіпокампа за умов моделювання хвороби

Альцгеймера. Також за допомогою цього методу нами було досліджено умови гіперкальціємії при моделюванні хвороби Альцгеймера. Було встановлено, що гіперкальціємія викликає підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію, та збільшення його входу через потенціалзалежні канали та його виходу із ендоплазматичного ретикулуму, що призводить до апоптозу та некрозу нейронів.

У ході аналізу даних було встановлено, що введення наночастинок діоксиду церію значно знижує кількість загиблих нейронів в культурі гіпокампа із змодельованою ХА, використання НДЦ для біомедичних застосувань є дуже перспективним.

### **Висновки:**

В дисертаційній роботі відповідно до мети і поставлених завдань було досліджено вплив нейропротективних та ушкоджуючих факторів на нейрони гіпокампа при моделюванні хвороби Альцгеймера

1. Була відтворена модель хвороби Альцгеймера на культурі нейронів гіпокампа. Встановлено, що  $\beta$ -амілоїд спричиняє загибель нейронів гіпокампа у культурі клітин.

2. Встановлено, що  $\beta$ -амілоїд викликає підвищення концентрації внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  в нейронах гіпокампа. Збільшується як вхід  $\text{Ca}^{2+}$  через кальцієві канали мембрани під час деполяризації, так і збільшується вихід  $\text{Ca}^{2+}$  із ендоплазматичного ретикулуму. В результаті, підвищується базальний рівень  $\text{Ca}^{2+}$ , що негативно впливає на життєздатність нейронів.

3. Встановлено, що гіперкальціємія знижує життєздатність нейронів гіпокампа і підвищує рівень внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ , що призводить до збільшення кількості некротичних нейронів.

4. Встановлено, що циклосприн, блокатору мітохондріальної пори, зменшує негативний вплив  $\beta$ -амілоїду на життєздатність нейронів при моделюванні ХА. Останнє свідчить про залучення мітохондрій в розвиток цитотоксичної дії  $\beta$ -амілоїду на нейрони.

5. Показано, що агоніст глутаматних НМДА-рецепторів, НМДА спричиняє збільшенню кількості некротичних нейронів, що відповідає ушкодженню нейронів внаслідок ексайтотоксичності. Мемантін – блокатор НМДА-рецепторів, значно зменшував кількість некротичних нейронів при дії НМДА.

6. Встановлено, що блокатор НМДА-рецепторів мемантін сприятливо впливав на життєздатність нейронів при моделюванні ХА. Кількість некротичних та апоптотичних нейронів значно зменшувалась.

7. Встановлено, що наночастки оксиду церію сприятливо впливали на життєздатність нейронів при моделюванні ХА. НДЦ значно зменшували кількість апоптотичних та некротичних нейронів при моделюванні ХА. Особливо ефективним виявилось завчасне додавання НДЦ перед моделюванням ХА.