

УДК 577.29
ББК 28.070
Н46

Авторы: М. А. Пальцев, И. М. Кветной, В. А. Зуев, Н. С. Линькова,
Т. В. Кветная

Нейродегенеративные заболевания: молекулярные основы
H463 патогенеза, прижизненной персонифицированной диагностики
и таргетной фармакотерапии / М. А. Пальцев, И. М. Кветной,
В. А. Зуев, Н. С. Линькова, Т. В. Кветная. — СПб. : Эко-Вектор,
2019. — 200 с. : ил. — (Серия «Молекулярная патология»).

ISBN 978-5-906648-83-9

Болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона являются социально значимыми нейродегенеративными заболеваниями. Манифестация этих заболеваний в среднем приходится на 50–55 лет, то есть на активный трудоспособный возраст. В настоящее время методологические подходы к прижизненной ранней диагностике и оценке эффективности лечения болезней Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона разработаны недостаточно. До конца не ясны механизмы развития этих заболеваний. В монографии детально анализируются различные гипотезы молекулярно-клеточных механизмов развития болезней Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона. С позиций нейроиммуноэндокринологии — интегральной биомедицинской науки — рассматриваются перспективы использования сигнальных молекул, синтезирующихся в центральной нервной системе, в качестве биологических маркеров для оптимизации прижизненной диагностики и таргетной терапии этих заболеваний. Описана современная методология исследования молекулярных механизмов гибели нейронов головного мозга. Особое внимание уделено инновационным исследованиям авторов, посвященным использованию клеток (фибробластов кожи и буккального эпителия), доступных для прижизненной ранней диагностики нейродегенеративных заболеваний. В книге приводится анализ препаратов, применяемых в настоящее время для терапии нейродегенеративных заболеваний, и оцениваются перспективы разработки новых, более эффективных и безопасных нейропротекторов.

Издание представляет интерес для широкого круга специалистов — нейробиологов, неврологов, фармакологов, патологов, гистологов, психиатров, генетиков, исследователей в области клеточной и молекулярной биологии и геронтологии.

УДК 577.29
ББК 28.070

Фото на обложке взято с сайта <https://cannasos.com/news/health>
“Cannabigerol May Aid in Treating Huntington's Disease Symptoms” Submitted by Mari Enio,
September 13, 2016. United States.

ISBN 978-5-906648-83-9

© Коллектив авторов, 2019
© ООО «Эко-Вектор», 2019

Оглавление

Список сокращений	6
Введение	9
ГЛАВА 1. Болезнь Альцгеймера: молекулярные механизмы, перспективы прижизненной диагностики и фармакотерапия (в соавторстве с В. О. Поляковой, А. С. Дятловой, Е. О. Кожевниковой)	10
1.1. Эпидемиологические исследования болезни Альцгеймера	10
1.2. Стадии болезни Альцгеймера	11
1.3. Патогенез болезни Альцгеймера	13
1.3.1. Роль токсичных олигомеров β -амилоида в патогенезе болезни Альцгеймера	14
1.3.2. Роль τ -протеина в патогенезе болезни Альцгеймера	15
1.3.3. Роль кальция в патогенезе болезни Альцгеймера	16
1.3.4. Роль глии в патогенезе болезни Альцгеймера	18
1.3.5. Гены, вовлеченные в патогенез болезни Альцгеймера	20
1.4. Диагностика болезни Альцгеймера: общепринятые подходы и перспективы	22
1.4.1. Диагностика болезни Альцгеймера по экспрессии сигнальных молекул в фибробластах кожи	24
1.4.2. Диагностика болезни Альцгеймера по экспрессии сигнальных молекул в тромбоцитах и лимфоцитах крови	28
1.4.3. Диагностика болезни Альцгеймера по экспрессии сигнальных молекул в цереброспинальной жидкости, плазме крови и моче	29
1.4.4. Методология сравнительного исследования экспрессии сигнальных молекул в гиппокампе, буккальном эпителии и фибробластах кожи при болезни Альцгеймера	32
1.5. Фармакотерапия болезни Альцгеймера: молекулярные аспекты и перспективы	76
1.5.1. Применение ингибиторов ацетилхолинэстеразы в терапии болезни Альцгеймера	78

1.5.2. Применение модуляторов глутаматергической передачи в терапии болезни Альцгеймера	83
1.5.3. Применение ноотропных препаратов в терапии болезни Альцгеймера	87
1.5.4. Разработка препаратов на основе моно- и поликлональных антител к Аβ42 для терапии болезни Альцгеймера	89
1.5.5. Применение препаратов, повышающих нейропластичность, в терапии болезни Альцгеймера	90
1.5.6. Новые субстанции и препараты, изучаемые как потенциальные средства в терапии болезни Альцгеймера	92
ГЛАВА 2. Болезнь Паркинсона: молекулярные механизмы, перспективы прижизненной диагностики и фармакотерапия (в соавторстве с А. С. Дятловой, Е. О. Кожевниковой)	96
2.1. История возникновения термина «болезнь Паркинсона»	96
2.2. Эпидемиологические исследования болезни Паркинсона	97
2.3. Клинические стадии болезни Паркинсона	98
2.4. Теории патогенеза болезни Паркинсона	101
2.4.1. Роль α-синуклеина в патогенезе болезни Паркинсона	102
2.4.2. Свободнорадикальная теория патогенеза болезни Паркинсона	106
2.4.3. Митохондриальная теория патогенеза болезни Паркинсона	107
2.4.4. Возможная роль маркеров апоптоза и старения в патогенезе болезни Паркинсона	109
2.5. Диагностика болезни Паркинсона	111
2.5.1. Перспективы применения периферических тканей для диагностики болезни Паркинсона	111
2.6. Фармакотерапия болезни Паркинсона: молекулярные аспекты и перспективы	116
2.6.1. Дофаминергическая терапия болезни Паркинсона	116
2.6.2. Инновационные подходы к терапии болезни Паркинсона	124

ГЛАВА 3. Болезнь Хантингтона: молекулярные механизмы, диагностика и фармакотерапия	134
3.1. Болезнь Хантингтона: история открытия заболевания	135
3.2. Клинические проявления болезни Хантингтона	136
3.3. Физиологические аспекты болезни Хантингтона	137
3.4. Диагностика болезни Хантингтона	138
3.4.1. Генетические аспекты болезни Хантингтона	141
3.4.2. Модели исследования болезни Хантингтона	147
3.4.3. Нейрохимические изменения при болезни Хантингтона	148
3.5. Новейшие аспекты методологии изучения молекулярно-клеточных механизмов развития болезни Хантингтона	150
3.6. Терапия болезни Хантингтона: современное состояние проблемы и новейшие разработки	156
3.6.1. Подход к замедлению нейродегенерации при болезни Хантингтона	159
3.6.2. Корреляция количества хантингтина в клетках крови и степени атрофии головного мозга	161
3.6.3. Белки, регулирующие разрушение неправильно свернутых белков	163
3.6.4. «Цинковые пальцы» — новый инструмент в борьбе с болезнью Хантингтона	165
3.6.5. Перспективы лечения болезни Хантингтона с помощью митохондриального антиоксиданта	166
Заключение	169
Рекомендуемая литература к главе 1	172
Рекомендуемая литература к главе 2	187
Рекомендуемая литература к главе 3	199

Глава 1

Болезнь Альцгеймера: молекулярные механизмы, перспективы прижизненной диагностики и фармакотерапия

1.1. Эпидемиологические исследования болезни Альцгеймера

Болезнь Альцгеймера (сенильная деменция альцгеймеровского типа, БА) — это прогрессирующее нейродегенеративное расстройство, характеризующееся необратимым ухудшением когнитивных и физических функций. БА является самой распространенной формой деменции: по разным данным, в настоящее время этому нейродегенеративному заболеванию подвержены от 25 до 40 млн пожилых людей по всему миру. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к 2050 г. распространенность БА вырастет в три-четыре раза.

БА считается заболеванием, ассоциированным с возрастом, поэтому в связи с увеличением качества и продолжительности жизни в развитых странах БА становится одной из главных причин смертности и приобретает статус социально значимого заболевания. Средняя продолжительность жизни после установления диагноза БА составляет около 7 лет, менее 3 % больных живут более 14 лет. Индивидуальный прогноз затруднен из-за вариаций в длительности течения болезни, которая может развиваться бессимптомно на протяжении длительного времени.

Когортные долгосрочные исследования, изучающие изначально здоровую популяцию в течение длительного времени, свидетельствуют о высокой заболеваемости БА: случаи БА составляют примерно половину от общего числа деменций за каждый год.

Пожилым возрастом является главным фактором риска развития БА: на каждые 5 лет после 65-летнего возраста по-

казатель риска увеличивается примерно вдвое — от 3 случаев в 65 лет до 69 случаев к 95 годам на тысячу человек. По некоторым данным, существуют также половые различия: женщины чаще заболевают БА, в особенности после 85 лет.

Распространенность заболевания в популяции зависит от заболеваемости и смертности; также стоит учитывать средний возраст исследуемых пациентов. Так, в группе пожилых людей в возрасте 65–74 лет около 1,6 % населения имели диагноз БА, в возрасте 75–84 лет этот показатель составлял уже 1,9 %, а среди лиц, чей возраст превысил 84 года, заболеваемость составляла 42 % (в США по данным на 2000 г.). Как уже было сказано выше, распространенность БА возрастает со временем: в 2005 г. БА страдали 0,379 % мирового населения, а прогноз на 2015 г. достигал значения 0,441 %, и еще больший процент населения (0,556 %) может быть поражен болезнью к 2030 г.

Главным проявлением БА считается прогрессирующее расстройство памяти, связанное с поражением гиппокампа и других отделов головного мозга. Наиболее часто на ранних стадиях распознается расстройство кратковременной памяти, этот симптом может проявляться, например, неспособностью вспомнить недавно заученную информацию. С развитием болезни происходит потеря долговременной памяти, развивается дисфункция различных органов и систем, что приводит к летальному исходу.

БА характеризуется триадой нейроморфофизиологических признаков, в которую входят наличие β -амилоидных бляшек (сенильных бляшек), спутанность нейрофибрилл и обширная деструкция нервной ткани, особенно в гиппокампе и коре головного мозга; эти изменения связаны с деменцией и характерными нейроповеденческими последствиями (рис. 1.1, см. с. 33).

1.2. Стадии болезни Альцгеймера

Развитие БА клинически разделяют на четыре стадии, с прогрессирующей картиной когнитивных и функциональных нарушений: предеменция, ранняя деменция, умеренная деменция и тяжелая деменция.

Предеменция. Первые симптомы БА сходны с проявлениями старения или реакцией на стресс. Ранние когнитивные

нарушения выявляются у некоторых людей при детальном нейрокогнитивном тестировании за 8 лет до постановки диагноза. Это может отражаться на выполнении простых повседневных задач. Наиболее заметно расстройство памяти, проявляющееся затруднением вспомнить недавно выявленные факты и в неспособности усвоить новую информацию. Симптомами ранних стадий БА также могут быть малозаметные проблемы исполнительных функций: сосредоточенности, планирования и абстрактного мышления. На этой стадии может отмечаться апатия, которая остается самым устойчивым нейропсихиатрическим симптомом на всем протяжении заболевания. Преклиническую стадию БА называют умеренным когнитивным нарушением.

Ранняя деменция. Прогрессирующее снижение памяти и агнозия при БА приводят к подтверждению диагноза. У небольшого числа пациентов при этом на первый план выступают нарушения речи, исполнительных функций и восприятия, двигательные нарушения (апраксия). БА неодинаково отражается на различных аспектах памяти. Старые воспоминания о собственной жизни (эпизодическая память), давно заученные факты (семантическая память), имплицитная память (неосознанная «память тела» о последовательности действий, например, о том, как использовать столовые приборы) в меньшей степени подвержены расстройству по сравнению с новыми фактами или воспоминаниями. Афазия в основном характеризуется уменьшением словарного запаса и снижением беглости речи, что в целом отрицательно сказывается на способности к словесному и письменному выражению мыслей. На этой стадии болезни человек обычно адекватно оперирует простыми понятиями при речевом общении. При рисовании, письме, надевании одежды и других задачах с использованием тонкой моторики человек может казаться неловким вследствие проблем с координацией и планированием движений. По мере развития БА пациент зачастую способен самостоятельно выполнять многие задачи, однако ему может потребоваться помощь или присмотр при попытке провести манипуляции, требующие повышенных когнитивных усилий.

Умеренная деменция. При дальнейшем развитии БА способность к независимым действиям снижается вследствие прогрессирующего ухудшения состояния. Расстройства речи

становятся более заметными, так как с потерей доступа к словарному запасу человек все чаще подбирает неверные слова на замену забытым (парафазия). Наблюдается потеря навыков чтения и письма. Со временем все более нарушается координация при выполнении сложных последовательностей движений, что снижает способность человека справляться с большинством повседневных задач. На этом этапе усиливаются проблемы с памятью, больной может не узнавать близких родственников. На этой стадии БА долговременная память также нарушается и отклонения в поведении становятся более заметными. Обычными являются такие нейропсихиатрические проявления, как бродяжничество, вечернее обострение (*sundowning*), раздражительность и эмоциональная лабильность, проявляющаяся в плаче, спонтанной агрессии, в сопротивлении помощи и уходу. Синдром ложной идентификации и другие симптомы бреда развиваются примерно у 30 % пациентов.

Тяжелая деменция. На последней стадии БА пациент полностью зависит от посторонней помощи. Владение языком сокращается до использования единичных фраз и даже отдельных слов. Несмотря на утрату вербальных навыков, пациенты часто способны понимать и отвечать взаимностью на эмоциональные обращения к ним. Хотя на этой стадии еще могут встречаться проявления агрессии, гораздо чаще состояние больного характеризуется апатией и истощением. Пациент не в состоянии осуществить даже самое простое действие без чужой помощи. Он теряет мышечную массу, передвигается с трудом и оказывается не в силах покинуть кровать, а затем и самостоятельно питаться. Смерть обычно наступает вследствие стороннего фактора, такого как пролежневая язва или пневмония, а не по причине БА.

1.3. Патогенез болезни Альцгеймера

В настоящее время не существует единого мнения о патогенезе БА. Наиболее распространенной является гипотеза о ведущей роли амилоидных бляшек в развитии БА, также рассматриваются гипотезы о роли τ -протеина, нарушениях кальциевого гомеостаза, активации глии. Существование наследственных форм этого заболевания породило мнение о наличии генов, вовлеченных в патогенез БА.

1.3.1. Роль токсичных олигомеров β -амилоида в патогенезе болезни Альцгеймера

Внеклеточный белок размером 40 аминокислот — наиболее распространенная форма β -амилоида (A β), составляющего до 90 % амилоида в здоровом мозге и до 40 % в мозге людей с БА. Однако мутации в гене APP (Amyloid precursor protein, предшественник β -амилоида) способствуют накоплению A β длиной 42 аминокислотных остатка (A β 42), который наиболее склонен к агрегации. Накопление A β 42 приводит к формированию амилоидных олигомеров, которые, в свою очередь, также агрегируют и принимают участие в формировании сенильных бляшек. Установлено, что у людей с БА в тканях мозга преобладает именно A β 42, который считается наиболее токсичным.

Изначально считалось, что способный агрегировать A β образует в мозге сенильные бляшки, вызывающие нарушение синаптической передачи, гибель нейронов и, как следствие, развитие деменции. При этом амилоидная гипотеза не могла объяснить тот факт, что количество и размер сенильных бляшек в мозге больного БА не коррелирует со степенью когнитивных нарушений. При этом некоторые люди без симптомов БА имеют обширные отложения A β , в то время как некоторые пациенты с наследственной формой БА (нБА) вообще не имеют сенильных бляшек. Установлено, что степень когнитивных нарушений при БА коррелирует с количеством A β , верифицированным биохимическим методом, но не с количеством A β , определенным гистологически. При иммуногистохимическом анализе растворимые формы A β остаются невидимыми. Возможно, именно олигомеры, а не сенильные бляшки являются наиболее токсичными для нейронов и вызывают патологические изменения при БА. Открытия в этой области привели к реновации «амилоидной гипотезы», которая стала называться «гипотезой токсичных олигомеров». В соответствии с новым вариантом амилоидной гипотезы считается, что накопление токсичного A β 42, агрегированного в олигомерные формы, вызывает сложный комплекс процессов на молекулярном и клеточном уровнях, что в итоге приводит к дисфункции и апоптозу нейронов.

Показано, что амилоидные олигомеры ухудшают эффект долговременной потенциации (long term potentiation, LTP).

LTP — специфическая функция нервной системы, заключающаяся в усилении синаптической передачи между нейронами и сохраняющаяся на протяжении длительного времени после воздействия на синапс. LTP лежит в основе синаптической пластичности — процесса, обеспечивающего адаптацию нервной системы организма к изменяющимся условиям окружающей среды; также распространено мнение, что LTP играет ведущую роль в процессах памяти и обучения. Синаптическая дисфункция, снижение эффекта LTP и, как следствие, потеря памяти на ранней стадии БА могут быть частично индуцированы амилоидными олигомерами, которые вызывают нарушение в синаптическом ремоделировании и формировании кратковременной памяти.

Было показано, что амилоидные олигомеры вызывают оксидативный стресс (ОС) и патологические изменения эндоплазматического ретикулума (ЭР), что повышает чувствительность нейронов к эксайтотоксичности — патологическому состоянию, ведущему к угнетению и гибели нейронов вследствие гиперактивации рецепторов глутамата. Эксайтотоксичность рассматривается как одна из причин, приводящих к гибели нейронов при нейродегенеративных заболеваниях. Несмотря на то что эти данные поддерживают гипотезу амилоидного каскада, частота их распространенности составляет около 1 %. Однако важно отметить, что данные, подтверждающие гипотезу амилоидного каскада, получены при моделировании БА у животных.

1.3.2. Роль τ -протеина в патогенезе болезни Альцгеймера

τ -Протеин представляет собой белок, ассоциированный с микротрубочками, необходимыми для роста аксонов. В норме τ -протеин взаимодействует с тубулином, облегчает его сборку в микротрубочки, стабилизирует их структуру. У мышей, нокаутных по τ -протеину, выявлена прогрессирующая с возрастом двигательная дисфункция.

Нейрофибрилярные патологии, ассоциированные с τ -протеином, встречаются при развитии более 20 нейродегенеративных заболеваний. Гиперфосфорилированный τ -протеин способен самопроизвольно агрегировать в парные спиральные филаменты, которые формируют нейрофибрилярные клубки. При БА накапливается гиперфосфо-

рилированный τ -протеин, что вызывает его диссоциацию, дестабилизацию микротрубочек и приводит к нарушению нейронального транспорта. Количество нейрофибриллярных клубков коррелирует со степенью прогрессирования заболевания, но при этом не соответствует степени потери нейронов, поскольку, в соответствии с экспериментальными данными, потеря памяти и гибель нейронов предшествуют формированию нейрофибриллярных клубков. По мнению некоторых авторов, именно олигомеры τ -протеина, а не сенильные бляшки оказывают цитотоксическое воздействие на нейроны и служат основной причиной развития БА. Показано, что нарушение процессов обучения и памяти усиливается с увеличением количества τ -олигомеров при БА. Потеря синапсов и активация микроглии предшествуют формированию нейрофибриллярных клубков, отражая нарушения в аксональном транспорте, которые происходят в результате гиперфосфорилирования τ -протеина.

Существует мнение, что в случае спорадической формы БА (сБА) τ -ассоциированная патология не является нижестоящим звеном амилоидного каскада, а развитие БА по гипотезе амилоидного каскада и при τ -патологии идет по двум независимым путям. Гиперфосфорилирование τ -протеина начинается в стволе головного мозга (в области голубого пятна), затем распространяется в область медиальной височной доли, лимбических структур, ассоциативной и первичной коры. При этом формирование амилоидов начинается с ассоциативной коры, а затем развивается в нижних областях коры, стволе мозга и мозжечке.

1.3.3. Роль кальция в патогенезе болезни Альцгеймера

На данный момент существует большое количество свидетельств, указывающих на нарушения в кальциевом сигналинге при БА. При старении наблюдаются изменения в регуляции внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} . Кальциевая гипотеза подтверждается изменениями в молекулярных каскадах, которые регулируют внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} , у животных с моделями БА и другими нейродегенеративными заболеваниями. Гипотеза основывается на представлении о том, что снижение умственных способностей происходит вследствие гибели нейронов гип-

покампа, что хорошо коррелирует со снижением способности к обучению и функций памяти. Кроме того, показано, что ключевой элемент патологии БА, аккумуляция $\text{A}\beta$, нарушает внутриклеточный кальциевый гомеостаз. В результате недавних исследований уровня кальция у трансгенных APP-мышей было установлено, что у 35 % нейронов, расположенных в непосредственной близости от амилоидных бляшек, значительно повышена концентрация кальция в цитозоле. В результате взаимодействия $\text{A}\beta$ с плазматической мембраной повышается концентрация внутриклеточного кальция и уязвимость нейронов к эксайтотоксичности. Один из механизмов, с помощью которого $\text{A}\beta$ может привести к входящему току Ca^{2+} , это формирование поры, обладающей проводимостью для Ca^{2+} . Нейротоксичные формы $\text{A}\beta$ являются олигомерами, которые разделяют структурную и функциональную гомологию с порообразующими бактериальными токсинами. Способность $\text{A}\beta$ ассоциироваться с плазматической мембраной и формировать ионные каналы усиливается под воздействием фосфатидилсерина на поверхности клетки. Экспрессия фосфатидилсерина на клеточной поверхности, как правило, указывает на дефицит энергии и апоптоз в клетках. Митохондриальные нарушения при БА могут увеличить уровень фосфатидилсерина на клеточной поверхности в пораженных нейронах и тем самым облегчить формирование $\text{A}\beta$ -опосредованных пор.

Помимо прямого влияния олигомеров на проницаемость мембраны для ионов кальция, они также оказывают влияние на гомеостаз кальция, изменяя активность ионотропных рецепторов глутамата и потенциалзависимых кальциевых каналов. Кроме этого, было обнаружено, что многие мутации в трансмембранных белках пресенилинах, ассоциированные с нБА, приводят к нарушениям в кальциевом гомеостазе. В частности, было показано, что в результате таких мутаций пресенилины теряют функцию ионных каналов малой проводимости, в результате чего прекращается пассивный выход ионов кальция из ЭР в цитозоль и происходит повышение концентрации кальция в ЭР. Высокая концентрация кальция токсична для нейрона и ведет к возникновению дегенеративных изменений и гибели нервных клеток.

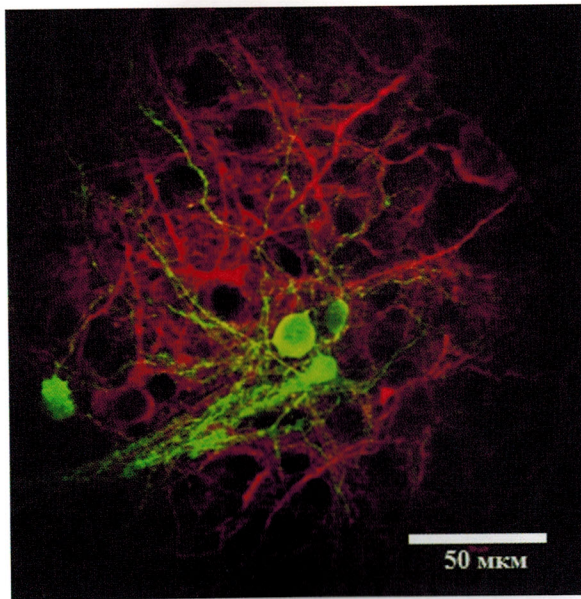


Рис. 3.6. Нейрональная культура из нейронов коры и стриатума. С помощью специфических антител нейроны коры окрашены в красный цвет, а нейроны стриатума — в желто-зеленый (Artamonov et al., 2013)

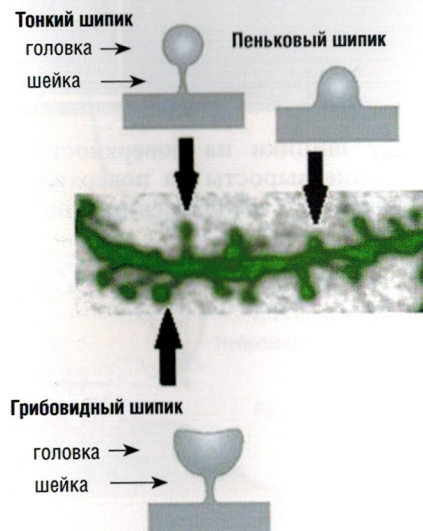


Рис. 3.7. Шипики разных типов на поверхности дендрита — микрофотография и схематическое изображение (Artamonov et al., 2013)

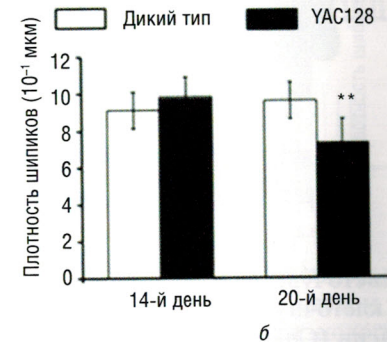
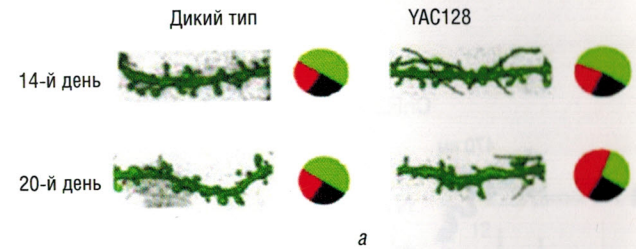


Рис. 3.8. Морфологический анализ нейронов стриатума: *а* — шипики нейронов на 14-й и 20-й дни культивирования. На микрофотографиях показаны участки дендритов нейронов. Относительное количество шпиков разных типов отмечено на круговой диаграмме: зеленый — грибовидные шипики, красный — тонкие шипики, черный — пеньковые шипики. На 20-й день культивирования на поверхности нейронов YAC128 снижается доля грибовидных шпиков и возрастает доля пеньковых; *б* — плотность дендритных шпиков (среднее количество шпиков на участке дендрита длиной 10 мкм) на нейронах дикого типа и YAC128 (Artamonov et al., 2013)