

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ, УЛУЧШАЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ ГОЛОВНОГО МОЗГА (АНГИОГЕН, ЦИТОФЛАВИН), НА ПРОЦЕССЫ АПОПТОЗА НЕЙРОНОВ И ФУНКЦИИ КОРЫ МОЗГА ПРИ СТАРЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е. Д. Бажанова¹, В. Н. Анисимов², Д. С. Суханов³,
Д. Л. Теплый⁴

Сохранность нейронов коры и их функциональная активность имеют важное значение для организма на всех этапах онтогенеза. Однако старческие изменения, приводящие к возрастанию уровня апоптоза клеток, могут вызывать значительные повреждения функции коры мозга, в том числе сенсомоторной. В связи с этим целью работы было изучение роли экзогенных нейрометаболитов (ангиоген, цитофлавин) в регуляции апоптоза и коррекции возрастных двигательных и поведенческих нарушений. Для изучения механизмов регуляции морфофункциональной активности нейронов использованы преждевременно стареющие трансгенные мыши с повышенной экспрессией онкогена HER2, в сравнении с мышами дикого типа (FBV). Изучали функциональные изменения коры мозга (Суок-тест, тест “открытое поле”), оценивали уровень апоптоза нейронов (TUNEL), экспрессию апоптоз-модулирующих белков (иммуногистохимия, Western blotting). Выявлены различия в психоэмоциональной и двигательной активности данных линий мышей. Результаты показали также морфологические различия — увеличение уровня апоптоза нейронов коры при старении у мышей FBV при отсутствии изменений у старых мышей HER2. Показано, что изученные препараты индуцируют клеточную гибель нейронов коры у трансгенных мышей обоих возрастов по p53-зависимому пути. Увеличение доли апоптотических клеток в группе старых трансгенных мышей имеет важное значение, поскольку апоптоз при старении является одной из причин возникновения рака. При этом у старых мышей дикого типа введение изученных препаратов приводит к снижению повышенного уровня апоптоза, что уменьшает риск возрастной нейродегенерации. Выявленные морфологические изменения коры головного мозга при старении являются базой для нарушений функций (снижение двигательной активности, повышение тревожности). Применение ангиогена и цитофлавина улучшает функциональную активность коры, способствуя, в первую очередь, сохранению структуры нервной ткани.

Ключевые слова: ангиоген; цитофлавин; апоптоз; нейроны; трансгенные мыши HER2/neu.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, сенсомоторная кора головного мозга отражает взаимодействие сенсорных и моторных на-

выков. Ограничение двигательной активности является одной из важнейших проблем теоретической и практической медицины и имеет большую социальную значимость. Многочисленными клиническими исследованиями установлено, что снижение двигательной активности оказывает влияние на деятельность всех тканей организма, вызывая мышечную атрофию, нарушения обмена веществ и гемодинамики и т.п., что особенно часто наблюдается при старении. К гипокинезии при старении предрасполагают и многочисленные заболевания, чаще всего хронические, появляющиеся или усиливающиеся при старении, это в первую очередь заболевания сердечно-сосудистой,

¹ ФГБУН институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44.

² ФГБУ “Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова” Министерства здравоохранения России, 197758, Санкт-Петербург, Песочный-2, Ленинградская, 68.

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41.

⁴ Астраханский государственный университет, Астрахань, ул. Татищева, 20а.

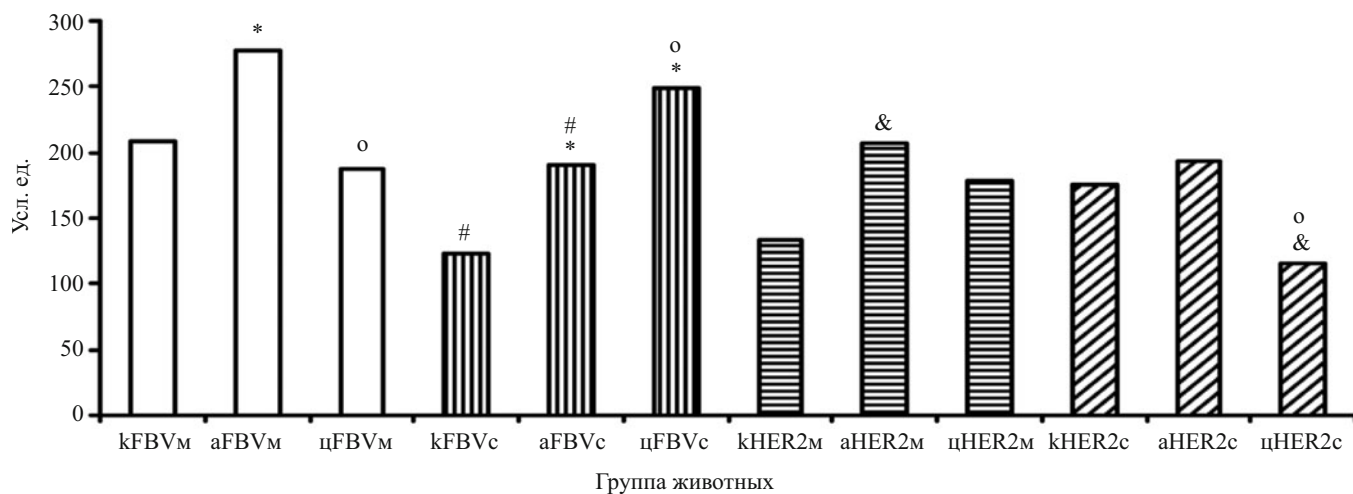


Рис. 1. Влияние препаратов ангиоген и цитофлавинов на локомоторную активность и ориентационно-исследовательское поведение мышей дикого типа (линия FBV) и трансгенных мышей HER2 разного возраста.

Здесь и на рис. 2, 3: * — достоверность различий по сравнению с контрольными животными того же возраста; o — достоверность различий по сравнению с животными, получавшими ангиоген, того же возраста и той же линии; # — достоверность по сравнению с молодыми животными той же группы; & — достоверность различий по сравнению с аналогичной группой FBV; к — контроль; а — группа животных, получавших ангиоген; ц — группа животных, получавших цитофлавин, м — молодые мыши; с — старые мыши.

опорно-двигательной системы, неврологические поражения и т.д.

Большое значение приобретает изучение не только физиологического, но и ускоренного старения, поскольку стресс, заболевания, активирующие свободно-радикальные процессы, способствуют раннему старению организма [10]. Показано, что изменения двигательной активности и психоэмоционального статуса являются проявлением старения мозга, причем может быть разная степень изменений поведения при физиологическом и ускоренном старении, либо нейродегенеративных расстройствах. Так, у крыс OXYS и Вистар с возрастом двигательная и исследовательская активность снижается, а тревожность растет, но у крыс OXYS — ускоренными темпами [5].

Причиной возникновения старческой патологии поведения, психологии и моторики может быть гибель нейронов головного мозга, в первую очередь, коры как филогенетически молодого образования. Так, показано ускорение апоптоза нейронов фронтальной коры и гиппокампа у пациентов с болезнью Альцгеймера и дофамин-продуцирующих нейронов в substantia nigra при болезни Паркинсона [9, 11]. Реализация этих эффектов связана с изменением экспрессии ряда апоптотических белков (p53, Bax, Bcl-2, caspase-8, -3, митохондриальные факторы и многие другие) в связи с развитием реакций окислительного стресса и эксайтотоксичности, являющихся одним из общих механизмов повреждения нервной системы при различных патологических состояниях. Высокий уровень апоптоза нейронов при старении является причиной сенильной нейродегенерации с нарушением функций, а низкий

уровень апоптоза приводит к развитию рака, таким образом, опасны как значительная интенсификация, так и супрессия этого процесса. Особая важность регуляции гибели нейронов как клеток, не способных к размножению, приводит к активным поискам препаратов, способных умеренно модулировать апоптоз. В связи с этим целью работы было исследование участия препаратов, улучшающих метаболизм головного мозга (ангиоген, цитофлавин), в регуляции апоптоза нейронов и коррекции возрастных двигательных и поведенческих нарушений.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на ускоренно стареющих трансгенных мышках HER2/neu в возрасте 2 и 10 мес, полученных из Italian National Research Center for Aging, разведение поддерживается в НИИ онкологии им. Петрова (Санкт-Петербург). Контролем служили мыши дикого типа FBV в возрасте 2 и 18 мес. Начальная масса молодых животных — 18–22 г, начальная масса старых животных — 30–35 г, в каждой группе было 8–10 мышей. Материал от 4–5 животных каждой группы использовали для морфологического анализа, от 4–5 животных — для биохимического анализа.

Изученные сукцинатсодержащие препараты (растворы для внутривенного введения, ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”) — ангиоген и цитофлавин, который кроме янтарной кислоты содержит рибоксин (инозин), никотинамид и рибофлавин мононуклеотид. Препараты вводили ежедневно внутривентально 1 раз в сутки

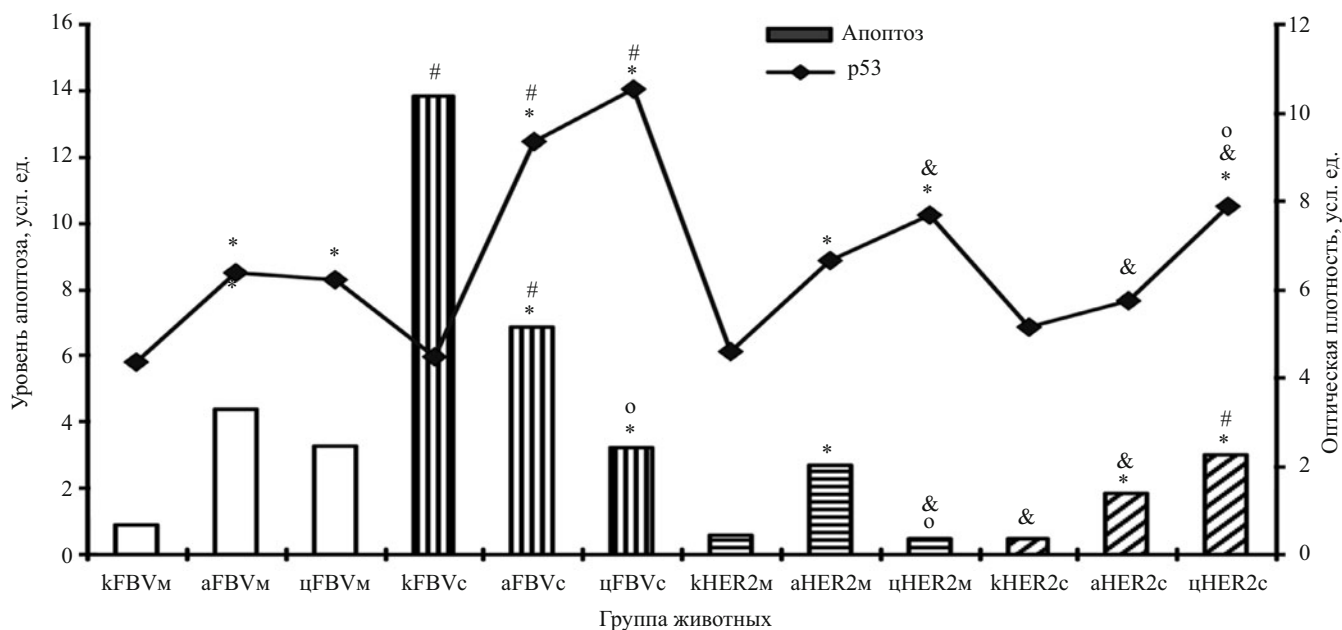


Рис. 2. Влияние препаратов ангиоген и цитофлавин на уровень апоптоза и экспрессию p53 в нейронах сенсомоторной зоны коры головного мозга у мышей дикого типа (линия FBV) и трансгенных мышей HER2 разного возраста.

в течение 10 дней в дозе 1,4 мл/кг. Дозы препаратов рассчитывали, исходя из рекомендованных терапевтических доз. В конце экспериментов с введением лекарственных препаратов под золотилловым наркозом (4 мг/кг) мышей декапитировали. Эксперименты были проведены в соответствии с правилами обращения с животными (протокол заседания № 8 Комиссии по биоэтике от 11.02.2014, утвержденной Приказом директора ИЭФБ РАН № 375-к-а от 10.12.2010).

Оценивали уровень апоптоза нейронов сенсомоторной зоны коры головного мозга (TUNEL, нерадиоактивное мечение биотином, выявление диаминобензидином) с использованием терминальной дезоксирибонуклеотидил-трансферазы для выявления разрывов ДНК (Sileks, Россия). На срезах коры головного мозга проводили иммуногистохимические реакции с использованием немеченых антител к члену суперсемейства фактора некроза опухолей CD95 (APO-1) (Abcam) с последующей денситометрией (VideoTest). Для выявления экспрессии апоптоз-ассоциированных молекул в сенсомоторной коре мозга проводили Western blotting с немечеными антителами к проапоптотическим белкам caspase-8, p53 (Abcam) и caspase-3 (Cell Signaling), в качестве контроля количества белка сделан Western blotting с антителами к GAPDH (Abcam). Уровень экспрессии апоптоз-ассоциированных молекул в коре мозга после Western blotting определяли с помощью денситометрии (программа ImageJ).

Оценку двигательного и психоэмоционального статуса мышей при старении проводили с помощью теста “открытое поле” [2, 6] и Suok-теста [3]. В тесте “от-

крытое поле” оценивали основную активность каждой особи по формуле:

$$OA = ПК + ЦК + ПС + ЦС,$$

где OA — основная активность; ПК — число пересеченных периферических квадратов; ЦК — число пересеченных центральных квадратов; ПС — число периферических стоек; ЦС — число центральных стоек. Смещенная активность (количество и время актов груминга), количество катышков помета и пятен уринации расценивались как показатели эмоциональной реактивности и тревожности. С помощью Suok-теста исследовали двигательную активность (количество пересеченных сегментов, падений, пересечений центра, соскальзываний лап, латентность первого падения). Часть показателей характеризует исследовательскую активность — заглядывание вниз и ориентационные заглядывания. Изменение показателей двигательной и поведенческой активности (горизонтальная активность, количество пересечений центра, остановок, падений, уринаций и дефекаций, латентный период выхода из стартового квадрата, заглядывания вниз, ориентации, смещенная активность — количество и время актов груминга) характеризует уровень тревожности.

В связи с однородностью содержания животных во всех группах и невозможностью опровергнуть нулевую гипотезу о нормальности распределения (по критерию Колмогорова — Смирнова) из-за небольшого количества единиц наблюдения при статистической обработке использовались методы, применяемые для нормального распределения данных. Полученные ре-

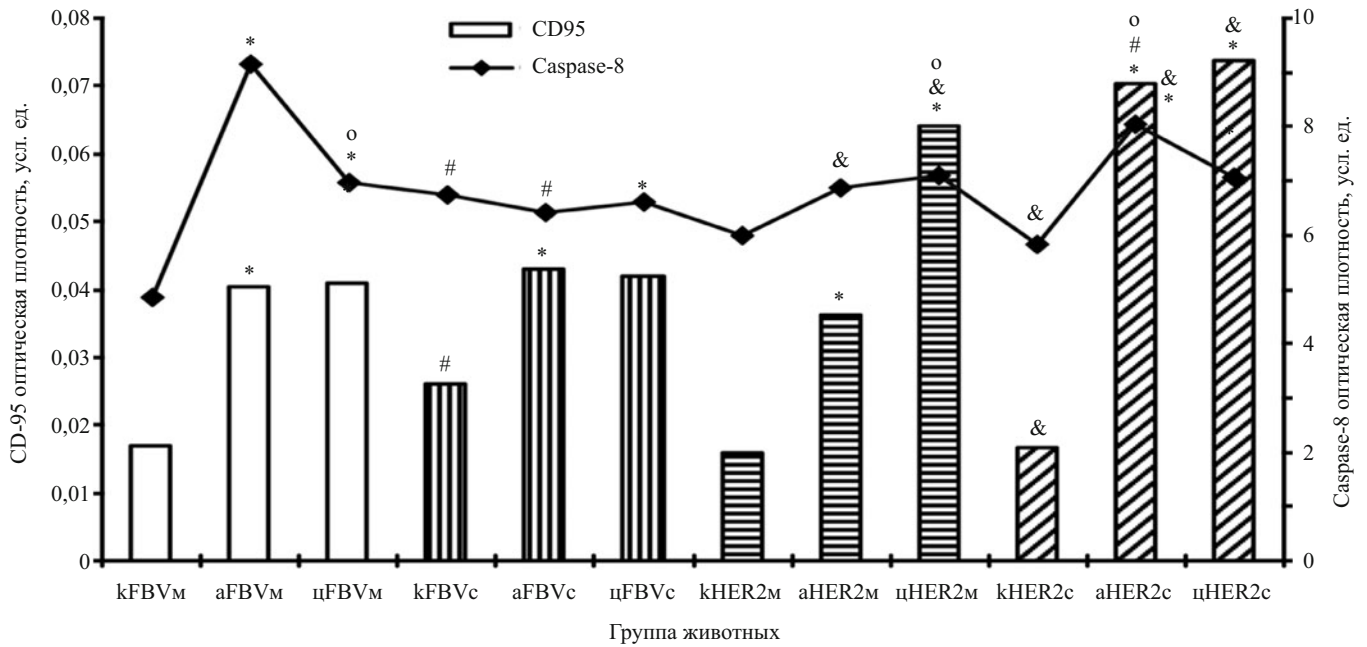


Рис. 3. Влияние препаратов ангиоген и цитофлавин на количество CD95 (FAS)-иммунореактивного материала и содержание caspase-8 в нейронах сенсомоторной зоны коры головного мозга у мышей дикого типа (линия FBV) и трансгенных мышей HER2 разного возраста.

зультаты обрабатывали с помощью метода ANOVA для множественного сравнения выборочных данных. При опровержении нулевой гипотезы о равенстве средних использовали попарное сравнение с помощью теста Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (Statistica 8).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поведенческая активность (по тесту “открытое поле” и Суок-тесту) молодых мышей дикого типа FBV достаточно велика, что говорит о высоком статусе двигательной активности и ориентационно-исследовательского поведения (рис. 1). Данный показатель снижается при старении, это может быть связано с возрастными морфологическими изменениями в сенсомоторной зоне коры. Поведенческая активность молодых трансгенных мышей низкая и практически не изменяется при старении, вероятно, это является особенностью данной линии. Ангиоген повышает локомоторную активность и исследовательское поведение у мышей обеих генетических линий независимо от возраста, что имеет позитивное клиническое значение в первую очередь при старении. Цитофлавин повышает поведенческую активность у старых мышей обеих линий.

Уровень тревожности был достаточно низкий у молодых животных обеих линий и повышался при старении. Уровень смещенной активности (один из показателей тревожности — время и количество актов груминга) не имеет возрастных различий у мышей разных генетических линий. Экзогенные нейрометаболиты улучшают ситуацию, снижая уровень тревожности

и повышая стрессоустойчивость у старых животных вне зависимости от генетической линии.

Уровень апоптоза нейронов сенсомоторной коры у молодых мышей обеих линий невысок (рис. 2). При старении у мышей дикого типа уровень апоптоза повышается, в отличие от трансгенных животных. Действие ангиогена зависит от возраста и линии животного — наблюдалась индукция апоптоза нейронов у молодых и подавление у старых мышей дикого типа; индукция апоптоза у мышей HER2 в обеих возрастных группах. Цитофлавин снижает уровень апоптоза нейронов у старых мышей дикого типа и индуцирует апоптоз у старых мышей HER2. Таким образом, уровень апоптоза нейронов коры у старых мышей HER2 возрастает после введения всех препаратов, что можно расценивать как положительный эффект.

Базовая экспрессия рецептора CD95 в нейронах коры молодых животных обеих линий невелика и не изменяется при старении у трансгенных мышей; у старых мышей дикого типа экспрессия данного рецептора повышена (рис. 3). Эти данные коррелируют с динамикой апоптоза нейронов (рис. 2) и с синтезом инициаторной caspase-8 (рис. 3). Применение изученных препаратов приводит к сверхэкспрессии CD95 и caspase-8 в нейронах сенсомоторной коры головного мозга молодых мышей FBV, при этом наблюдается индукция апоптоза (рис. 2). Также активизируется синтез CD95 и caspase-8 у молодых трансгенных мышей. Нет изменений в уровне синтеза caspase-8 в коре старых мышей FBV, хотя экспрессия CD95 повышается после введения ангиогена и цитофлавина (рис. 3). В группах

старых трансгенных животных, получавших ангиоген и цитофлавин, наблюдается активация синтеза CD95 и caspase-8, что коррелирует с повышением уровня апоптоза (рис. 2, 3).

Уровень экспрессии проапоптотического белка p53 в нейронах коры контрольных мышей обеих линий невысок, независимо от возраста (рис. 2). Введение ангиогена и цитофлавина приводит к повышению синтеза p53 в коре мозга мышей дикого типа независимо от возраста и генетической линии.

В данном эксперименте отмечено повышение экспрессии эффекторной caspase-3 почти во всех случаях повышения уровня апоптоза нейронов, кроме группы молодых мышей HER2, получавших цитофлавин (рис. 2). Также наблюдались случаи сверхэкспрессии caspase-3 при нормальном уровне апоптоза (трансгенные молодые мыши, получавшие цитофлавин, и старые, получавшие ангиоген и цитофлавин), что может указывать на неапоптотическую функцию данного белка, как показано в работах других авторов [8]. Невысокая экспрессия caspase-3 в контрольной молодой группе FBV и в контрольных группах HER2 соответствует низкому уровню апоптоза в этих клетках (рис. 2).

Анализ результатов показал высокую степень стрессоустойчивости и низкую — тревожности у молодых мышей дикого типа, выявленную по многим показателям. При старении у мышей дикого типа снижается локомоторная активность и повышается напряжение вегетативной системы (возрастание тревожности). Мы показали, что молодые трансгенные мыши по своему психоэмоциональному и локомоторному статусу не имеют достоверных различий с животными дикого типа, однако у мышей HER2 не наблюдается возрастной динамики, можно отметить лишь некоторое повышение тревожности на поздних этапах онтогенеза.

Одной из целей эксперимента было выявление механизма развития запрограммированной клеточной гибели нейронов при старении. При старении повышается уровень апоптоза нейронов коры у мышей FBV с характерной динамикой маркеров апоптоза. Ранее мы показали, а в настоящем эксперименте подтвердили, что у мышей дикого типа на поздних этапах онтогенеза апоптоз идет по внешнерецепторному пути — при участии поверхностно-клеточных рецепторов, членов суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей CD95, с последующей активацией caspase-8 (превращением ее в активную форму) и разворачиванием дальнейшего каскада. Также индуцируется синтез проапоптотического белка p53 и, далее, эффекторной caspase-3, результирующей фрагментацию ДНК. Результатом морфологических изменений является повреждение функции коры при старении — снижение локомоторной активности, исследовательского поведения и повышение тревожности.

У трансгенных животных уровень апоптоза и синтез изученных белков низкий, и нет реакции их на ста-

рение. Наши результаты, свидетельствующие об отсутствии активации апоптоза при старении у трансгенных мышей HER2, подтверждают полученные ранее данные [1]. Результатом подобного подавления апоптотического каскада у трансгенных мышей является повышенный канцерогенез и уменьшенная продолжительность жизни. Двигательные функции и ориентировочно-исследовательское поведение были несколько ниже, по сравнению с диким типом, и не обнаружено изменений при старении, хотя наблюдается повышение тревожности.

При изучении нейропротекторных свойств препаратов показано следующее. Ангиоген улучшает локомоторные функции животных, основную активность и ориентационно-исследовательское поведение во всех изученных группах. И ангиоген, и цитофлавин приводят к снижению тревожности, повышению стрессоустойчивости у молодых и старых животных независимо от генетической линии. Цитофлавин улучшает поведенческую активность и ориентационно-исследовательское поведение у старых мышей FBV, но несколько снижает основную активность старых трансгенных животных и молодых мышей FBV. Подобные эффекты могут определяться метаболическим нейропротекторным действием янтарной кислоты и рибофлавина, стабилизирующих тканевое дыхание [13], инозина [4].

Сравнительный анализ препаратов показал, что введение ангиогена улучшает локомоторные функции животных, основную активность и ориентационно-исследовательское поведение во всех изученных группах (мышь FBV, HER2, молодые и старые). Кроме того, ангиоген улучшает поведенческую активность, регистрируемую в Suok-тесте, у трансгенных мышей обоих возрастов. Это позволяет предположить более широкий спектр применения данного препарата в клинике, особенно в геронтологии и гериатрии. Цитофлавин оказывает позитивное действие на поведенческую активность и ориентационно-исследовательское поведение в более ограниченном объеме (только старые мыши FBV). Нет отличий между влиянием препаратов ангиоген и цитофлавин на уровень тревожности.

Ангиоген (введение внутривенно 1 раз в сутки в течение 10 дней в дозе 1,4 мл/кг) в среднем в 4,7 раза ($p \leq 0,05$) повышает апоптоз нейронов коры у молодых мышей FBV и у трансгенных мышей обоих возрастов, активируя внешний и p53-зависимый пути. У старых мышей FBV ангиоген (внутривенно 1 раз в сутки 10 дней 1,4 мл/кг) и цитофлавин (внутривенно 1 раз в сутки 10 дней 1,4 мл/кг) снижает в 2 ($p \leq 0,05$) и в 3,3 ($p \leq 0,05$) раза апоптоз нейронов коры, соответственно, уменьшая риск возраст-зависимой нейродегенерации. Апоптоз нейронов в группах молодых мышей FBV и HER2, получавших ангиоген, является caspase-3-зависимым, и протекает по внешнему и p53-зависимому пути. Апоптоз нейронов старых мышей HER2, активированный ангиогеном, идет с акти-

вацией CD95-caspase-8-сигналинга, и имеет важное клиническое значение, поскольку низкий уровень апоптоза у данной линии мышей приводит к канцерогенезу. Также позитивным можно считать и ингибирующее действие ангиогена у старых мышей FBV, так как в этом случае высокий процент гибнущих нейронов коры снижается до средних цифр, чем уменьшаются опасность возраст-зависимой нейродегенерации. У старых мышей FBV цитофлаavin снижает долю апоптотических нейронов, несмотря на некоторую активацию синтеза p53, caspase-3, CD95. У старых мышей HER2 цитофлаavin повышает апоптоз нейронов, активируя внешний и p53-зависимый пути.

Помимо общеизвестных метаболических эффектов, в том числе улучшения клеточного дыхания, дискутируется участие янтарной кислоты в регуляции апоптоза. Данные по этому вопросу немногочисленны и противоречивы. Некоторые авторы сообщают об отсутствии нейропротекторных эффектов при ее применении [12], хотя есть работы, свидетельствующие об ингибировании апоптоза и некроза клеток посредством активации Akt-пути [13]. По последним данным, никотинамид ингибирует sirtuins (silent information regulator-2 family), являющиеся ключевыми регуляторами клеточных функций, таких как клеточный рост, апоптоз, метаболизм и, что особенно важно, генетический контроль возраст-зависимых болезней [7]. Таким образом, при определенных условиях препараты, содержащие никотинамид, способны снижать уровень апоптоза клеток. В наших экспериментах выявлены неоднозначные эффекты данных препаратов, зависящие, очевидно, от физиологического (биохимического) состояния клеток, которое определяется в первую очередь генетической линией мышей и возрастом животного.

Таким образом, изученные препараты индуцируют клеточную гибель нейронов коры головного мозга в группах трансгенных мышей и в группе молодых мышей дикого типа по p53-зависимому пути. Как известно, p53-зависимый каскад чаще всего опосредует апоптоз при старении. Увеличение доли апоптотических клеток в группе старых трансгенных мышей имеет важное клиническое значение, поскольку сниженный апоптоз при старении является одной из причин возникновения рака.

Итак, выявленные морфологические изменения коры головного мозга отражают инволюционные нарушения функций. Применение ангиогена и цитофлавина улучшает функциональную активность коры, способствуя, в первую очередь, сохранению структуры нервной ткани.

ВЫВОДЫ

1. У молодых мышей дикого типа FBV ангиоген в среднем в 4,7 раза ($p \leq 0,05$) повышает апоптоз нейронов коры в группах молодых мышей дикого типа и у

трансгенных мышей обоих возрастов. наблюдается высокая локомоторная и психоэмоциональная активность. При старении апоптоз нейронов сенсомоторной коры индуцируется по внешнерецепторному и p53-зависимому пути, результатом является нарушение функции коры (снижение локомоторной активности, исследовательского поведения и повышение тревожности).

2. Выявлены функциональные особенности линии трансгенных мышей HER2/neu — невысокая поведенческая и моторная активность молодых мышей и отсутствие изменений при старении, при некотором повышении тревожности. У трансгенных животных уровень апоптоза нейронов коры низкий и не изменяется при старении.

3. Ангиоген и цитофлаavin улучшают двигательные функции и ориентационно-исследовательское поведение мышей, приводят к снижению тревожности, повышению стрессоустойчивости независимо от возраста и генетической линии.

4. У старых мышей HER2 ангиоген (введение внутривентрикулярно 1 раз в сутки в течение 10 дней в дозе 1,4 мл/кг) и цитофлаavin (введение внутривентрикулярно 1 раз в сутки в течение 10 дней в дозе 1,4 мл/кг) повышают апоптоз нейронов в 2,81 ($p \leq 0,05$) и 5,25 ($p \leq 0,05$) (значительнее) раз, соответственно, через внешний и p53-зависимый пути, что имеет клиническое значение, поскольку низкий апоптоз у мышей HER2 способствует канцерогенезу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Д. Бажанова, В. Н. Молодцов, И. Г. Попович, В. Н. Анисимов, *Успехи геронтол.*, № 4, 31 – 35 (2007).
2. Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991).
3. А. В. Калусев, П. Туохимаа, *Нейронауки*, № 1, 17 – 23 (2005).
4. В. И. Петров, Э. А. Пономарев, С. С. Маскин, Н. Н. Стрелетов, *Эксперим. и клин. фармакол.*, № 8, 13 – 16 (2011).
5. Н. А. Стефанова, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Новосибирск, (2011).
6. Е. Н. Чуян, О. И. Горная, *Физика живого*, № 2, 193 – 199 (2009).
7. Y. Colak, A. Yesil, H. N. Mutlu, et al., *J. Gastrointest. Liver Dis.*, № 3, 311 – 319 (2014).
8. Y. Lu, G. Q. Chen, *Int. J. Cell Biol.*, 738301. doi: 10.1155 / 2011 / 738301 (2011).
9. M. P. Mattson, W. A. Pedersen, W. Duan, et al., *Ann. NY Acad. Sci.*, **893**, 154 – 175 (1999).
10. M. P. Mattson, S. L. Chan, P. M. LaFerla, et al., *Trends Neurosci.*, **23**, 69 – 78 (2000).
11. M. P. Mattson, W. Duan, W. A. Pedersen, C. Culmsee, *Apoptosis*, № 1 – 2, 69 – 81 (2001).
12. R. Sandhir, A. Mehrotra, S. S. Kamboj, *Neurochem. Int.*, № 5, 579 – 587 (2010).
13. X. L. Tang, J. X. Liu, P. Li, W. Dong, et al., *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, № 21, 3742 – 3746 (2013).

COMPARATIVE EXPERIMENTAL STUDY OF THE INFLUENCE OF DRUGS THAT IMPROVE BRAIN METABOLISM (ANGIOGEN, CYTOFLAVIN) ON NEURONAL APOPTOSIS AND FUNCTION OF CEREBRAL CORTEX DURING AGING

E. D. Bazhanova^{1*}, V. N. Anisimov², D. S. Sukhanov³, and D. L. Teplyi⁴

¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Thorez prosp. 44, St. Petersburg, 194223 Russia;

² N. N. Petrov Research Institute of Oncology, ul. Leningradskaya 68, Pesochny-2, St. Petersburg, 197758 Russia;

³ I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, ul. Kirochnaya 41, St. Petersburg, 191015 Russia;

⁴ Astrakhan State University, ul. Tatishcheva 20a, Astrakhan, 414056 Russia;

* e-mail: bazhanovae@mail.ru

The safety of cortical neurons and their functional activity is essential for organism at all stages of ontogenesis. However, aging changes leading to an increase in apoptosis level may cause considerable damage to cerebral cortex function, including sensorimotor. We have studied the role of exogenous neurometabolites (angiogen, cytoflavin) in apoptosis regulation and correction of age-related motor and behavioral disturbances. To study the regulation of neuronal morphofunctional activity, we used accelerate-senescent transgenic HER2 mice in comparison to wild type FBV mice. Functional changes in cerebral cortex were studied by the Suok test and open field test, the level of neuronal apoptosis was assessed by TUNEL method, the expression of apoptosis-modulating proteins was detected by immunohistochemistry and Western blotting. We have revealed differences in psycho-emotional and locomotor activity of these strains of mice. In addition, results of our study showed morphological differences: increase in the apoptosis level of cortical neurons in aged FBV type mice, but no changes in aged HER2 mice. The investigated drugs induce cell death of cortical neurons in transgenic mice of both ages and in young wild-type mice by p53-dependent pathway. Increased apoptosis in the cortex of old transgenic mice has important clinical implications, because reduced apoptosis during aging is one of the causes of cancer. The treatment of old wild-type animals reduces elevated neuronal apoptosis, which decreases risk of age neurodegeneration. Thus, revealed morphological changes in the cerebral cortex are the basis for involitional disabilities (including reduced locomotor activity and increased anxiety level). The use of angiogen and cytoflavin treatment improves functional activity of the cortex and protects normal structure of nervous tissue.

Keywords: angiogen; cytoflavin; apoptosis; neurons; HER2/neu transgenic mice.