

**Цой А.К.¹, Алимбетов Д.С.², Имангали Н.³, Шалахметова Т.М.⁷,
Абжанова Э.Р.⁴, Тургамбаева А.М.⁵, Аскарлова Ш.Н.⁶**

¹PhD, научный сотрудник, e-mail: andrey@tsoys.com,

²PhD, научный сотрудник, ³ассистент исследователя, ⁴ассистент исследователя, ⁵ассистент исследователя,

⁶кандидат биологических наук, PhD, заведующая лабораторией, e-mail: shaskarova@nu.edu.kz

Национальная Лаборатория Астана, Назарбаев Университет, Казахстан, г. Астана

⁷доктор биологических наук, профессор,

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

РОЛЬ СТАРЕНИЯ АСТРОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Болезнь Альцгеймера (БА) является нейродегенеративным заболеванием у пожилых людей и характеризуется церебральной атрофией, накоплением в клетках мозга пептидов β -амилоида (A β) и тау-белка. Предполагают, что при старении аккумуляция A β в тканях головного мозга может привести к развитию воспалительных процессов и гибели нервных клеток в результате образования нейротоксических соединений, таких как активные формы кислорода, оксид азота, провоспалительные цитокины. В связи с этим, целью настоящей работы явилось исследование влияния A β на синтез провоспалительного цитокина IL6 и проведение сравнительной оценки воздействия провоспалительных цитокинов TNF- α и IFN- γ на молодые и стареющие астроциты. Для выяснения данных вопросов были использованы методы получения популяции стареющих астроцитов из фетальной ткани головного мозга человека, методики инкубирования астроцитов с провоспалительными цитокинами TNF- α и IFN- γ и β -амилоидом, иммунофлуоресцентного их выявления и определения супероксид аниона в молодых и стареющих астроцитах. В ходе работы было установлено, что стареющие астроциты более чувствительны к провоспалительным сигналам, чем молодые клетки, о чем свидетельствует повышенный синтез активных форм кислорода (супероксид аниона) при воздействии TNF- α и IFN- γ . Показано также, воздействие A β приводит к значительному увеличению уровня провоспалительного цитокина IL-6 в стареющих астроцитах по сравнению с более молодыми клетками. Таким образом, повышенный синтез АФК и провоспалительных цитокинов в стареющих клетках мозга играет ключевую роль в патогенезе болезни Альцгеймера. Полученные данные имеют важное теоретическое и практическое значение в изучении патогенеза этой болезни, а также для разработки методов лечения возрастных нейродегенеративных заболеваний.

Ключевые слова: астроциты, β -амилоид, цитокины, β -галактозидаза, старение клеток.

Tsoy A.K.¹, Alimbetov D.S.², Imangali N.³, Shalakhmetova T.M.⁷,
Abzhanova E.R.⁴, Turgambayeva A.M.⁵, Askarova Sh.N.⁶

¹PhD, researcher, e-mail: andrey@tsoys.com, ²PhD, researcher, ³assistant researcher, ⁴assistant researcher,
⁵assistant researcher, ⁶candidate of biological sciences, PhD, head of laboratory, e-mail: shaskarova@nu.edu.kz
National Laboratory of Astana, Nazarbayev University, Kazakhstan, Astana

⁷doctor of biological sciences, professor, Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

The role of aging of astrocytes in pathogenesis of Alzheimer's disease

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease in elderly people and is characterized by cerebral atrophy, the accumulation of peptides of β -amyloid (A β) and tau protein in brain cells. It is suggested that with aging, accumulation of A β in the brain tissues can lead to the development of inflammatory processes and the death of nerve cells as a result of the formation of neurotoxic compounds such as reactive oxygen species, nitric oxide, pro-inflammatory cytokines. In this regard, the aim of this

work was to study the effect of A β on the synthesis of the proinflammatory cytokine IL6 and to perform a comparative evaluation of the effect of proinflammatory cytokines TNF- α and IFN- γ on young and aging astrocytes. To elucidate these questions, methods of obtaining of a population of aging astrocytes from human fetal brain tissue, methods of incubation of astrocytes with pro-inflammatory cytokines TNF- α and IFN- γ and β -amyloid, immunofluorescence detection and superoxide anion determination in young and aging astrocytes were used. In the course of the work, it was found that aging astrocytes are more sensitive to pro-inflammatory signals than younger cells, as evidenced by increased synthesis of reactive oxygen species (superoxide anion) upon exposure to TNF- α and IFN- γ . It is also shown that the effect of A β leads to a significant increase in the level of proinflammatory cytokine IL-6 in aging astrocytes as compared to younger cells. Thus, increased synthesis of ROS and pro-inflammatory cytokines in aging brain cells plays a key role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. The obtained data have an important theoretical and practical significance in the study of the pathogenesis of this disease, as well as for the development of treatment tools for age-related neurodegenerative diseases.

Key words: astrocytes, β -amyloid, cytokines, β -galactosidase, cell aging.

Цой А.К.¹, Алимбетов Д.С.², Имангали Н.³, Шалахметова Т.М.⁷,
Абжанова Э.Р.⁴, Тургамбаева А.М.⁵, Аскарлова Ш.Н.⁶

¹PhD, ғылыми қызметкер, e-mail: andrey@tsoys.com, ²PhD, ғылыми қызметкер, ³ассистент зерттеуші,

⁴ассистент зерттеуші, ⁵ассистент зерттеуші, ⁶биология ғылымдарының кандидаты,

PhD, зертхана меңгерушісі, e-mail: shaskarova@nu.edu.kz

Астана Ұлттық Лабораториясы, Назарбаев Университеті, Қазақстан, Астана қ.

⁷биология ғылымдарының докторы, профессор, әл-Фараби атындағы

Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

Альцгеймер ауруының патогенезінде астроциттердің қартаю рөлі

Альцгеймер ауруы қарт адамдарда кездесетін нейродегенеративті аурулар қатарына жатады және бас ми клеткаларында β -амилоид (A β) және тау-белок пептидтерінің жинақталуынан жұлын-ми сұйықтығының атрофияға ұшырауымен сипатталады. Қартаю кезінде бас ми ұлпаларында A β жинақталуы қабыну процестерінің дамуына және нерв клеткаларының өліміне әкеледі, нәтижеде оттегінің белсенді түрлерін, азот оксидін, цитокиндерді тудыратын нейротоксикалық байланыстардың түзілуіне әкеледі. Осыған байланысты бұл жұмыстың мақсаты жас және қартайған астроцит клеткаларына IL6 цитокинінің синтезін тудыратын A β әсерін зерттеу және TNF- α и IFN- γ цитокиндерін тудыратын әсерлерге салыстырмалы баға беру. Осы сұрақтарды анықтау үшін адамның бас миының фетальді ұлпаларынан қартайған астроциттер популяциясын алу әдістері қолданылды. TNF- α и IFN- γ және β -амилоид цитокиндерін тудырушылармен астроциттерді инкубациялау әдісі олардың иммунофлуоресценттілігін айқындау және жас және қартайған клеткаларда супероксид анионын анықтау. Жас клеткаларға қарағанда қартайған астроциттердің қабынуды тудыратын сигналдарға сезімтал екені анықталды, себебі TNF- α және IFN- γ әсерлері кезінде оттегінің белсенді түрінің (анион супероксиді) жоғары синтезі дәлел бола алады. Жас клеткалармен салыстырғанда қартайған астроциттерде A β әсерінен IL-6 цитокиндерінің деңгейінің артқаны байқалды. Сондықтан Альцгеймер ауруының патогенезінде қартайған бас ми клеткаларында АФК жоғары синтезі мен цитокиндерді тудыратын әсерлер маңызды рөл атқарады. Алынған мәліметтер осы аурудың патогенезін зерттегенде теориялық және практикалық тұрғадан маңызы үлкен және жастық өзгерістер кезіндегі нейродегенеративті ауруларды емдеу тәсілдерінің бірі болып табылады.

Түйін сөздер: астроциттер, β -амилоид, цитокиндер, β -галактозидаза, клеткалардың қартаюы.

Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием в мире (Thies W, 2012: 131). Патологически БА характеризуется церебральной атрофией, аккумуляцией пептида β -амилоида (A β), депонированием гиперфосфорилированного тау-белка, нарушением синаптических контактов и воспалительными процессами в тканях головного мозга (Bhat R, 2012: e45069). Как показало полногеномное исследование, церебральное воспаление

является одной из лидирующих причин возникновения спорадической формы БА (Lambert JC, 2013: 1452). Предполагают, что аккумуляция A β в тканях головного мозга приводит к развитию воспалительных процессов и гибели нервных клеток за счет формирования таких нейротоксичных соединений как активные формы кислорода, оксид азота, провоспалительные хемокины и цитокины (интерлейкин-1 β (IL-1 β), фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерферон- γ (IFN- γ)) (Zhao J, 2011: 150). Поскольку преклонный возраст является самым значительным фактором, много-

кратно увеличивающим риск развития болезни БА, то возникает закономерный вопрос о том, каким образом биологические механизмы старения вовлечены в патогенез данного вида деменции, и особый интерес в этой связи представляют механизмы клеточного старения.

Как известно, нормальные соматические клетки человека (за исключением некоторых типов стволовых клеток) не обладают способностью делиться неограниченное количество раз. Чаще всего они проходят через определенное количество клеточных делений, после чего достигают стадии, называемой клеточным (репликативным) старением (Bitto A, 2010: 2961). При этом, “стареющие” клетки не погибают, но накапливаются в тканях и остаются живыми продолжительное время. Помимо выхода из клеточного цикла, стареющие клетки значительно отличаются фенотипом от аналогичных «молодых» пролиферирующих клеток. Отличительной особенностью фенотипа, проявляющегося у различных типов стареющих клеток, является увеличение продукции и экскреции ряда биологически активных белков, включая провоспалительные цитокины и модуляторы внеклеточного матрикса (Rodier F, 2011: 547; Rodier 2009: 973).

Среди клеток центральной нервной системы астроциты наиболее многочисленны, и по количеству более чем в пять раз превосходят нейроны (Sofronief M, 2010: 7). Астроциты отвечают за регуляцию синаптических контактов, контролируют метаболизм ЦНС и поддерживают целостность гематоэнцефалического барьера, поэтому их дисфункция влияет на физиологию ЦНС в целом. Известно, что активированная астроглия высвобождает провоспалительные вещества и токсичные молекулы, такие как активные формы кислорода (АФК), оксид азота, провоспалительные цитокины и хемокины (IL-1 β , IL-6 and IL-8, TNF- α , IFN- γ), обладающие нейротоксичным действием (Bhat R, 2012: e45069; Matsuoka Y, 2001: 1345; Freund A, 2011: 1536). Хотя воспалительные процессы, протекающие при БА, интенсивно исследовались, секреторный статус этих токсичных белков в условиях клеточного старения астроцитов изучен слабо. В связи с вышесказанным, целью настоящего исследования явилось изучить влияние А β на синтез провоспалительного цитокина IL6 и провести сравнительную оценку воздействия провоспалительных цитокинов TNF- α и IFN- γ на молодые и стареющие астроциты.

Материалы и методы исследования

Выделение астроцитов из фетальной ткани. В настоящем исследовании использовали культуру фетальных астроцитов человека. Мозг извлекали из плода (возраст плода 21 неделя) и погружали в среду HupoThermosol (Sigma, США). Непосредственно перед выделением астроцитов фетальный мозг ополаскивали в PBS (pH 7,4) при 4 $^{\circ}$ C, после чего мозг помещали в чашку Петри и удаляли мозговые оболочки. Ткани мозга переносили в чистую чашку, мелко иссекали и инкубировали в 0,25% растворе трипсина (Sigma, США) в течение 20 мин при 37 $^{\circ}$ C. Полученную суспензию пропускали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 70 мкм. Диссоциированные клетки ресуспендировали в полноценной среде DMEM содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% пенициллин/стрептомицина. Клетки в количестве 1 млн/мл высевали на матрас для культивирования клеток T-75 и инкубировали в CO $_2$ инкубаторе при температуре 37 $^{\circ}$ C и концентрации CO $_2$ 5%. Культуральную среду заменяли свежей порцией один раз в три дня. На 9-й день, для очистки культуры астроцитов от других глиальных клеток, матрас помещали на орбитальный шейкер и встряхивали в течение 2 часов при 240 оборотах (Sharif A, 2012: 137). Затем среду, содержащую взвесь глиальных клеток, удаляли из матраса. Оставшиеся астроциты культивировали до достижения 90% конfluence и пассажировали для проведения экспериментов, которые проводили на 3-м и 4-м пассажах.

Получение популяции стареющих астроцитов. Фетальные астроциты человека, условно обозначаемые M2 и M3, образцы мозга №2 и №3 соответственно, культивировали в полноценной среде DMEM (Life Technologies, США). По достижении 90% плотности монослоя культуру клеток трипсинизировали и пересевали на новый матрас T75 (по 200 тысяч клеток на матрас). После чего, для увеличения конfluence культуры, клетки в течение нескольких дней культивировали в CO $_2$ инкубаторе в стандартных условиях. При плотности монослоя 90% процедуру пассажирования астроцитов повторяли. Таким способом клетки доводили до состояния остановки клеточных делений. Оценку репликативного старения клеток проводили путем анализа числа удвоений популяции (УП) астроцитов, а также активности фермента β -галактозидазы (SA- β -gal).

Количество клеток подсчитывали на автоматическом счетчике клеток TC 20тм (Bio-Rad,

США). Число УП рассчитывали согласно следующей формуле (1):

$$\text{УП}^{\text{клеточной линии}} = \text{Log}_{10} \left(\frac{\text{количество клеток в монослое с плотностью 90\%}}{\text{пассажируемые клетки}} \right) / \text{Log}_{10} 2 \quad (1)$$

Для определения активности фермента SA-β-gal, являющегося маркером стареющих клеток, астроциты фиксировали в 0,5% глютаральдегиде в течение 15 мин при комнатной температуре. Затем клетки промывали в фосфатном буфере (pH 7,4) с последующей инкубацией в рабочем растворе (фосфатный буфер/магний хлорид/дезоксихолат натрия/NP-40) в течение 15 минут. После чего, клетки окрашивали красителем X-gal (5-Бром-4-хлор-3-индолил-β-D-галактопиранозид) в течение 12 часов при 37°C. Клетки дважды промывали в фосфатном буфере и микроскопировали. По соотношению количества положительно окрашенных клеток к общему числу астроцитов рассчитывали процент стареющих клеток в популяции.

Инкубирование астроцитов с провоспалительными цитокинами TNF-α и IFN-γ и β-амилоидом. Для оценки влияния провоспалительных цитокинов TNF-α и IFN-γ на генерацию АФК в молодых и стареющих астроцитах, клетки высевали на 96 луночный планшет по 2 тысячи на каждую лунку. Через 12 часов клетки подвергали воздействию TNF-α и IFN-γ, клетки были разбиты на следующие группы: контрольные молодые (интактные); стареющие (интактные); молодые и стареющие клетки, которые инкубировали с TNF-α в концентрации 0,1 нг/мл и 0,5 нг/мл в течение 60 минут; молодые и стареющие клетки, которые инкубировали с IFN-γ в концентрации 100 МЕ/мл и 50 МЕ/мл в течение 60 минут. Клетки, которые подвергались воздействию β-амилоида, инкубировали в полноценной среде DMEM с добавлением Аβ42 в концентрации 5 мкМ. Для этого 5 мМ раствора β-амилоида (AnaSpec, США) и растворителя DMSO разводили до концентрации 100 мкМ в ледяной культуральной среде Ham, а затем обрабатывали ультразвуком в течение минуты для получения мономеров Аβ42. Далее для получения из мономеров β-амилоида олигомеры, которые, как известно, являются наиболее токсичными для клеток, их инкубировали при температуре 37°C в течение 2 часов (Askarova S, 2011: 375).

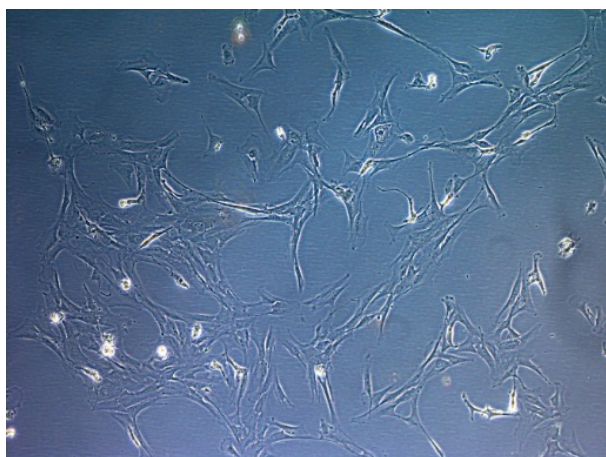
Фиксация клеток и иммуофлуоресцентное окрашивание. Для проведения иммуофлуорес-

центного окрашивания специфического маркера астроцитов (GFAP) культуру клеток промывали в PBS (pH 7,4), а затем фиксировали в течение 30 минут в 3,74% формалине. Пермеабиллизацию клеток проводили в 0,1% растворе Тритона X-100 в PBS (pH 7,4) течение 2-3 минут, затем клетки промывали в PBS 3 раза по 10 минут (Askarova S, 2011: 380). Для исключения вероятности неспецифического связывания антител клетки инкубировали в 5% растворе сывороточного альбумина в течение 1 часа при комнатной температуре. Затем клетки инкубировали с первичными антителами, специфичными к исследуемому белку, в течение 12 часов при температуре 4°C в разведении 1:200 (Santa Cruz). После этого клетки промывали в фосфатном буфере (pH 7,4) 3 раза по 10 минут и инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с флуорофором Alexa 594 (Life Technologies), в разведении 1:1000 в течение 1 часа при комнатной температуре. Для окрашивания ядер клетки инкубировали с 4,6-диамидино-2-фенилиндолом дигидрохлоридом (DAPI) в течение 5 минут, затем промывали три раза по 5 минут в фосфатном буфере (pH 7,4) (Tarnowski BI, 1991: 297). После окраски покровные стекла с клетками высушивали на воздухе при комнатной температуре и заключали в специальную жидкость ProLong Diamond Antifade Mountant (Life Technologies), монтировали на предметные стекла и микроскопировали (Askarova S, 2011: 380). Флуоресцентные изображения получали с помощью инвертированного моторизованного микроскопа Olympus IX83 оснащенного мнوخромной камерой XM10.

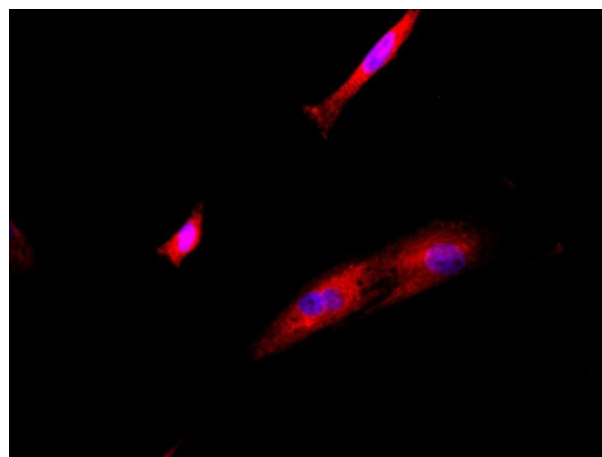
Определение содержания супероксид аниона в астроцитах головного мозга. Анализ уровня генерации АФК в астроцитах проводили путем оценки общего содержания кислородных радикалов как внутриклеточного, так и в культуральной среде. Для этого использовали метод оценки супероксид аниона с помощью красителя 2',7'-дихлородигидрофлуоросцеин ацетата (DCF). Данный краситель свободно проникает в клетки. После ферментативного отщепления ацетатных групп эстеразами клеток краситель

окисляется кислородными радикалами с образованием флуоресцентного продукта с параметрами экстинкции 495 нм и эмиссии 527 нм. Для анализа содержания АФК в астроцитах клетки инкубировали с DCF (5 мкМ) в течение 60 минут, одновременно с цитокинами. Стоковый раствор красителя приготавливали путем раз-

ведения 50 мкг DCF (Life Technologies, США) в 34,6 мкл DMSO. Для приготовления рабочего раствора DCF 1 мкл стокового раствора разводили в культуральной среде 1:1000 (Corda S, 2001: 765). После инкубации с красителем интенсивность флуоресценции оценивали с помощью планшетного ридера Synergy H1.



А



Б

Рисунок 1 – Культура астроцитов на 9 день культивирования после очистки, фазовый контраст x200 (А), флуоресценция меченого маркера GFAP (красный), и окраска ядра DAPI (голубой), x600 (Б)

Статистическая анализ. Полученные данные представлены в виде средней \pm стандартная погрешность средней величины (Mean \pm SEM). Стандартные отклонения между экспериментальными группами оценивались с помощью t-критерия Стьюдента. Значения считались достоверно различными при $p \leq 0,05$. Анализ данных проводился с использованием программы для статистического анализа SigmaPlot 11. Каждый эксперимент проводился как минимум в трех независимых повторностях.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты анализа чистоты культуры выделенных астроцитов показали, что после 9 дней культивирования плотность моно слоя клеток в разных участках матрица достигала 50% (рисунок 1, А). После очистки культуры астроцитов от моноцитов и олигодендроглии плотность моно слоя практически не снижалась. Более 93% клеток в полученной культуре положительно окрашивались по маркеру GFAP, что свидетельствовало о том, что основной популяцией кле-

ток в исследуемой культуре являлись астроциты (рисунок 1, Б).

Результаты анализа динамики роста астроцитов популяции М2 и М3 представлены на рисунке 2. Из приведенной иллюстрации видно, что до достижения репликативного старения или замедления клеточных делений астроцитам М3 потребовалось 60 дней, в то время как клетки популяции М2, продолжали делиться в замедленном темпе и достигали старения только на сотый день культивирования.

Коэффициент УП в культуре М2 был равен 10,11, а в культуре астроцитов М3 был равен 14,3. Следует отметить, что полученные результаты согласуются с предыдущими исследованиями других авторов: коэффициенты удвоения популяций линий клеток М2 и М3 с момента начала культивирования до достижения ими репликативного старения, находятся в пределах от 8 до 15, что соответствует коэффициентам, встречающимся в литературе (Bitto A, 2010: 2965).

Результаты оценки старения астроцитов в культуре представлены на рисунках 3, 4.

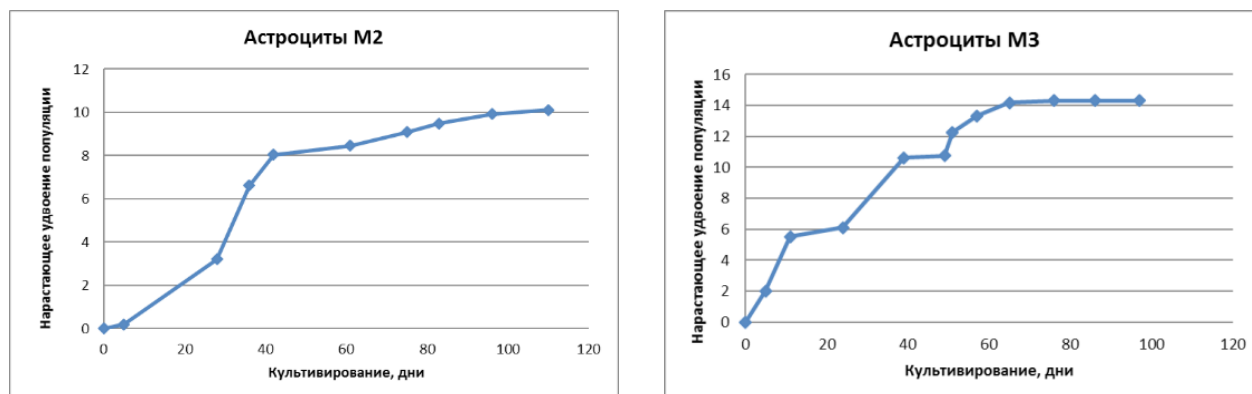


Рисунок 2 – Кривая роста старения культуры астроцитов популяций M2 и M3

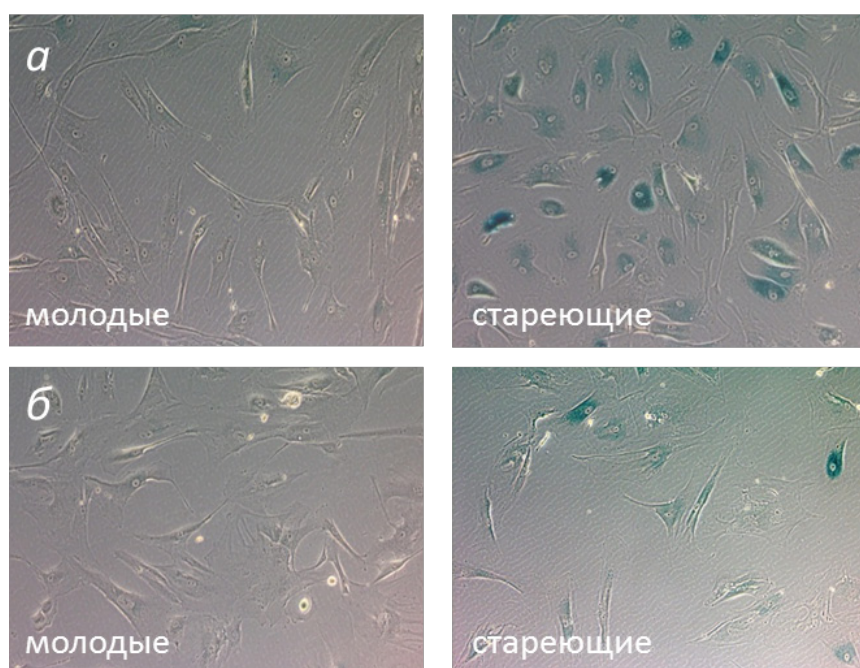


Рисунок 3 – Фотографии молодых M2 (А) и стареющих M3 (Б) астроцитов с окрашиванием SA-β-Gal (темно-голубой цвет), x400

Для оценки старения популяции астроцитов использовали метод анализа активности фермента β-галактозидазы (SA-β-Gal), являющегося лизосомной гидролазой. В молодых клетках SA-β-Gal проявляет свою активность при pH 4,0, в то время как в стареющих клетках активность фермента максимальна при pH 6,0, в связи с чем было предложено использовать оценку активности данного фермента в качестве маркера старения клеток (Dimri GP, 1995: 9364). На рисунке 3 видно что количество окрашенных клеток в стареющих астроцитах значительно выше чем в молодых клетках, что свидетельствует о репликативном старении клеток (рисунок 3).

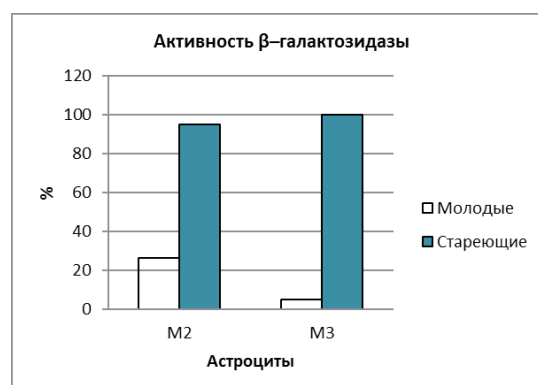


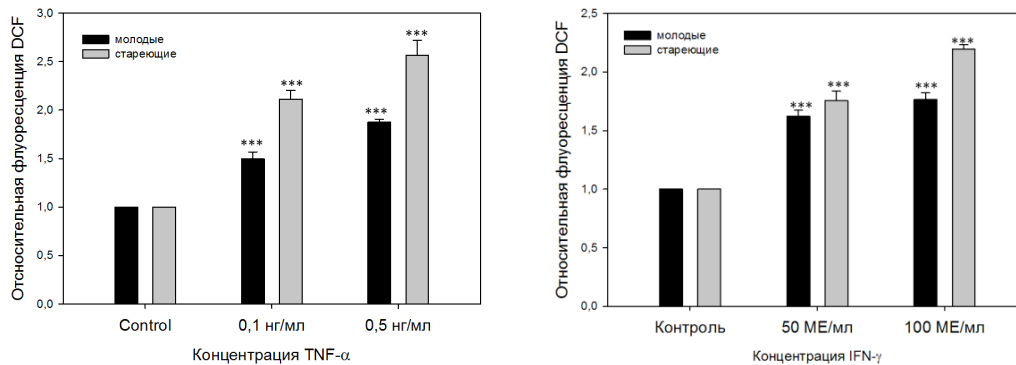
Рисунок 4 – Активность ассоциированной со старением β-галактозидазы в астроцитах

Количественный анализ положительно окрашенных клеток показал, что в популяции стареющих астроцитов практически все клетки достигали репликативного старения, в то время как в культуре молодых клеток количество стареющих астроцитов не превышало 25 процентов (рисунок 4).

Результаты анализа содержания АФК в молодых и стареющих астроцитах при воздействии TNF- α и IFN- γ представлены на рисунке 5. Из приведенного рисунка видно, что по сравнению с интактными клетками, в астроцитах, подвергавшихся воздействию TNF- α , содержание АФК резко возрастало. При воздействии цитокина в дозировке 0,5 нг/мл уровень АФК значительно пре-

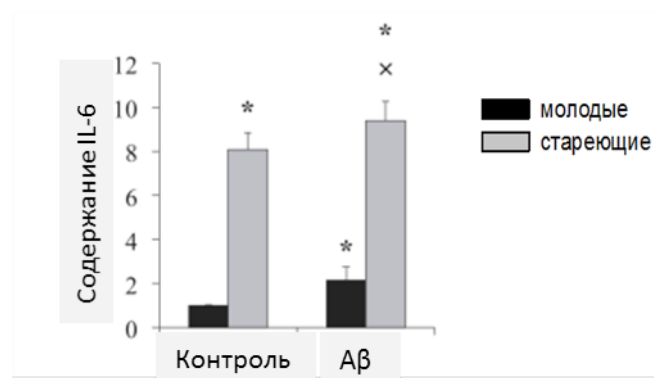
вышал данный показатель у клеток, которые обрабатывали 0,1 нг/мл цитокина. Примечательно, что в стареющих астроцитах уровень АФК был значительно выше, чем в молодых клетках (рисунок 5).

Результаты анализа содержания АФК в молодых и стареющих астроцитах при воздействии IFN- γ показали, что по сравнению с контролем, при воздействии данного цитокина в концентрациях 50 МЕ/мл и 100 МЕ/мл, содержание кислородных радикалов резко возрастало, при этом у стареющих астроцитов, при применении 100 МЕ/мл IFN- γ , реакция на провоспалительный стимул была интенсивнее, чем у молодых клеток. Об этом можно было судить по более высокому уровню АФК (рисунок 5).



***- $p \leq 0,001$ по сравнению с контролем (t-критерий Стьюдента)

Рисунок 5 – Относительная интенсивность флуоресценции DCF в астроцитах головного мозга при воздействии TNF- α и IFN- γ



*- $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем; x- $p \leq 0,05$ по сравнению с молодыми клетками (t-критерий Стьюдента)

Рисунок 6 – Содержание цитокина IL-6 в молодых и стареющих астроцитах головного мозга при воздействии A β

Результаты сравнительной оценки влияния Аβ на синтез цитокина IL-6 представлен на рисунке 6. Видно, что по сравнению с молодыми астроцитами в стареющих клетках содержание IL-6 было выше в 4 раза. В клетках, которые подвергали воздействию Аβ уровень содержания данного цитокина превышал таковой у контрольных молодых и стареющих клеток.

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что стареющие астроциты более чувствительны к провоспалительным сигналам, чем молодые клетки, о чем свидетельствует повышенный синтез АФК. В свою очередь, воздей-

ствии Аβ приводит к значительному увеличению уровня провоспалительного цитокина IL-6 в стареющих астроцитах по сравнению с более молодыми клетками. Повышенный синтез АФК и провоспалительных цитокинов в стареющих клетках может играть ключевую роль в патогенезе болезни Альцгеймера, однако требуется проведение дальнейших исследований по изучению влияния Аβ на стареющие астроциты с целью выяснения клеточных и молекулярных механизмов данного феномена, что может иметь важное значение для разработки новых способов лечения возрастных нейродегенеративных заболеваний.

Литература

- 1 Askarova S., Yang X., Sheng W., Sun G.Y., Lee J.C. Role of Abeta-receptor for advanced glycation endproducts interaction in oxidative stress and cytosolic phospholipase A(2) activation in astrocytes and cerebral endothelial cells // *Neuroscience*. – 2011. – Vol. 199. – P.375-385.
- 2 Bhat R., Crowe E.P., Bitto A., Moh M., Katsetos C.D., Garcia F.U., Johnson F.B., Trojanowski J.Q., Sell C., Torres C. Astrocyte Senescence as a Component of Alzheimer's Disease // *PLoS ONE*. - 2012. - Vol. 7, No. 9. - P. e45069.
- 3 Bitto A., Sell C., Crowe E., Lorenzini A., Malaguti M., Hrelia S., Torres C. Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes // *Exp Cell Res*. - 2010. - Vol. 316, No. 17. - P. 2961-2968.
- 4 Corda S., Laplace C., Vicaut E., Duranteau J. Rapid reactive oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor-alpha is mediated by ceramide // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. - 2001. - Vol. 24, No. 6. - P. 762-768.
- 5 Dimri G.P., Lee X., Basile G., Acosta M., Scott G., Roskelley C., Medrano E.E., Linskens M., Rubelj I., Pereira-Smith O. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 1995. - Vol. 92, No. 20. - P. 9363-9367.
- 6 Freund A., Patil C.K., Campisi J. p38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype // *EMBO J*. - 2011. - Vol. 30, No. 8. - P. 1536-1548.
- 7 Lambert J.C. et.al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease // *Nat. Genet*. - 2013. - Vol. 45, No. 12. - P. 1452-1458.
- 8 Matsuoka Y., Picciano M., Malester B., LaFrancois J., Zehr C., Daeschner J., Olschowka J., Fonseca M., O'Banion M., Tenner A., Lemere C., Duff K. Inflammatory responses to amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease // *Am. J. Pathol*. - 2001. - Vol. 158. - P. 1345-1354.
- 9 Rodier F., Campisi J. Four faces of cellular senescence // *J. Cell Biol*. - 2011. - Vol. 192, No. 4. - P. 547-556.
- 10 Rodier F., Coppe J.P., Patil C.K., Hoeijmakers W.A., Munoz D.P., Raza S.R., Freund A., Campeau E., Davalos A.R., Campisi J. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion // *Nat. Cell Biol*. - 2009. - Vol. 11, No. 8. - P. 973-979.
- 11 Sharif A., Prevot V. Isolation and culture of human astrocytes // *Methods Mol. Biol*. - 2012. - Vol. 814. - P. 137-151.
- 12 Sofroniew M., Vinters H. Astrocytes: biology and pathology // *Acta Neuropathol*. - 2010. - Vol. 119. - P. 7-35.
- 13 Tarnowski B.I., Spinale F.G., Nicholson J.H. DAPI as a useful stain for nuclear quantitation // *Biotech. Histochem*. - 1991. - Vol. 66, No. 6. - P. 297-302.
- 14 Thies W., Bleiler L. Alzheimer's disease facts and figures // *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*. - 2012. - Vol. 8, No. 2. -P. 131-168.
- 15 Zhao J., O'Connor T., Vassar R. The contribution of activated astrocytes to Abeta production: Implications for Alzheimer's disease pathogenesis // *Journal of Neuroinflammation*. – 2011. – Vol. 8, No. 1. – P. 150.

References

- 1 Askarova S, Yang X, Sheng W, Sun GY, Lee JC (2011) Role of Abeta-receptor for advanced glycation endproducts interaction in oxidative stress and cytosolic phospholipase A(2) activation in astrocytes and cerebral endothelial cells. *Neuroscience*, 199: 375-385.
- 2 Bhat R, Crowe EP, Bitto A, Moh M, Katsetos CD, Garcia FU, Johnson FB, Trojanowski JQ, Sell C, Torres C (2012) Astrocyte Senescence as a Component of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* 7 (9): e45069.
- 3 Bitto A, Sell C, Crowe E, Lorenzini A, Malaguti M, Hrelia S, Torres C (2010) Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes. *Exp Cell Res* 316 (17): 2961-2968.

- 4 Corda S, Laplace C, Vicaud E, Duranteau J (2001) Rapid reactive oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor-alpha is mediated by ceramide. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 24 (6): 762-768.
- 5 Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, Medrano EE, Linskens M, Rubelj I, Pereira-Smith O (1995) A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92 (20): 9363-9367.
- 6 Freund A, Patil CK, Campisi J (2011) p38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype. *EMBO J*, 30 (8): 1536-1548.
- 7 Lambert JC et al. (2013) Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 45 (12): 1452-1458.
- 8 Matsuoka Y, Picciano M, Malester B, LaFrancois J, Zehr C, Daeschner J, Olschowka J, Fonseca M, O'Banion M, Tenner A, Lemere C, Duff K (2001) Inflammatory responses to amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Am J Pathol*, 158: 1345-1354.
- 9 Rodier F, Campisi J (2011) Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol* 192 (4): 547-556.
- 10 Rodier F, Coppe JP, Patil CK, Hoeijmakers WA, Munoz DP, Raza SR, Freund A, Campeau E, Davalos AR (2009) Campisi J. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol* 11 (8): 973-979.
- 11 Sharif A, Prevot V (2012) Isolation and culture of human astrocytes. *Methods Mol Biol*, 814:137-151.
- 12 Sofroniew M, Vinters H (2010) Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 119: 7-35.
- 13 Tarnowski BI, Spinale FG, Nicholson JH (1991) DAPI as a useful stain for nuclear quantitation. *Biotech Histochem*, 66 (6): 297-302.
- 14 Thies W, Bleiler L (2012) Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*. 8 (2): 131-168.
- 15 Zhao J, O'Connor T, Vassar R (2011) The contribution of activated astrocytes to Abeta production: Implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Neuroinflammation* 8 (1): 150.