

ГЛИАЛЬНЫЙ ФИБРИЛЛЯРНЫЙ КИСЛЫЙ БЕЛОК, КАК МАРКЕР ГЛИОЗА В ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЕ ПРИ СТАРЕНИИ

Сонин Г.А.^{1,2}, Мальков А.А.^{1,3}, Прощина А.Е.¹, Харламова А.С.¹,
Гулимова В.И.¹, Савельев С.В.¹

¹Российский научный центр хирургии имени академика Б.В.Петровского

²Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И.Пирогова

³Первый Московский государственный медицинский университет имени
И.М.Сеченова (Сеченовский Университет)
Москва, Россия

Введение. Человечество стареет, в связи с этим пристальное внимание приковано к возрастным изменениям мозга и ассоциированным со старением нейродегенеративным заболеваниям. В последнее время фокус исследований переключился со старения нейронов на возрастные изменения глии. Известно, что при повреждении мозга, воспалении, ишемии или нейродегенерации возникает реактивный глиоз. Важную роль в развитии глиоза играют астроциты. Современные исследования показывают, что процесс глиоза в стареющем мозге человека сложнее, чем простое «разрастание» астроцитов. Ключевое изменение заключается не только в увеличении их количества, но и в глубокой функциональной перестройке и накоплении сенесцентных (состарившихся) клеток, которые выделяют провоспалительные вещества. Хронический воспалительный фон (нейровоспаление) нарушает синаптическую пластичность, ухудшает метаболическую поддержку нейронов и в конечном итоге способствует когнитивному снижению, даже при отсутствии специфических нейродегенеративных заболеваний [1, с. 5; 3, с. 8].

Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) – это белок промежуточных филаментов, который служит основным маркером астроцитов в центральной нервной системе. При повреждении ЦНС экспрессия GFAP резко возрастает. В контексте возрастных нейродегенеративных заболеваний наряду с увеличением реакции на GFAP (глиозом) может происходить повреждение и атрофия астроцитов, что ведет к утрате поддержки нейронов [2, с. 3].

Гипосмия/аносмия и нарушение способности распознавать запахи очень распространены среди пожилых людей, но обонятельная дисфункция также часто встречается у пациентов с нейродегенеративными заболеваниями. Нарушения обоняния проявляются на ранних стадиях этих заболеваний и могут наступить за много лет до клинических проявлений [4, с. 1475]. Обонятельная луковица (ОЛ) является первым уровнем обработки обонятельных сигналов в мозге. Однако о возрастных изменениях в астроцитах ОЛ при физиологическом старении известно немного.

ОЛ млекопитающих имеет слоистую структуру. У грызунов в ОЛ на основании морфологических данных было выделено 6 разных форм

астроцитов и 3 подтипа обкладочных (обволакивающих) клеток (olfactory ensheathing cells) [5, с. 4]. Эти клетки сочетают в себе свойства астроцитов и шванновских клеток, выполняя, в основном, поддерживающую функцию.

Исследования ОЛ человека подтверждают общий принцип послойной организации и наличие глиальной сети, но высокая морфологическая специфичность клеток требует дополнительного изучения.

Целью работы было провести анализ распределения GFAP в ОЛ людей мужского и женского пола при старении.

Методы исследования. Всего было исследовано 21 ОЛ, полученных от 10 мужчин и 11 женщин пожилого (9) и старческого (12) возрастов, не страдавших от нейродегенеративных заболеваний.

Фрагменты нижней части мозга были зафиксированы в 10% забуференном формалине (pH 7,0–7,4). Правые ОЛ отделяли, проводили дегидратацию в спиртах возрастающей концентрации и диоксане. Затем их целиком заливали в парафин и получали фронтальные серийные срезы толщиной 10 мкм. Срезы монтировали на предметные стекла.

Иммуногистохимический анализ проводили с использованием первичных мышиных моноклональных антител к GFAP (Invitrogen, США) в разведении 1:200. Для иммуногистохимического мечения срезы депарафинировали, регидратировали, для демаскирования антигенов обрабатывали кипячением в цитратном буфере в течение 10 минут и инкубировали с первичными антителами, разведенными в 0,01М фосфатно-солевом буфере в течение двух часов при температуре 37°C. Визуализацию проводили с использованием системы детекции Histofine (Nichirei, Япония) согласно рекомендациям производителя. Препараты анализировали после сканирования при увеличении объектива 20×. Морфометрический анализ выполняли в программе ImageJ 1.54r (NIH). Для морфометрического анализа распределения GFAP измеряли площадь иммуногистохимической реакции относительно площади всего среза и отдельно в 1-м и 2-м слоях ОЛ.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10 (Statsoft, Inc.) с применением непараметрических методов. Для сравнения двух независимых групп использовали метод Манна-Уитни, при комплексном анализе половозрастных отличий применяли метод Краскела-Уоллиса ANOVA с последующей поправкой на множественные сравнения. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение. Во всех образцах GFAP+ клетки выявлены во всех слоях ОЛ. Иммуногистохимическая реакция была наиболее выражена в слое вхождения волокон обонятельного нерва и клубочковом слое, расположенных наиболее близко к поверхности ОЛ.

При множественном сравнении в целом по слоям нам не удалось выявить никаких статистически значимых различий между группами мужчин и женщин пожилого и старческого возраста. При этом обнаружена тенденция к увеличению площади реакции на GFAP в 1 и 2 слоях, как при старении, так и в зависимости от пола. Чтобы оценить вклад этих факторов по отдельности в формировании двух наружных слоев ОЛ был проведен

дополнительный анализ, в результате которого показано, что площадь, занимаемая GFAP+ структурами, статистически значимо ($p=0,049$) увеличивается в группе людей старческого возраста по сравнению с пожилыми. Половые различия были статистически незначимы.

В доступной литературе отсутствуют крупномасштабные количественные исследования, посвященные изучению GFAP+ клеток в ОЛ человека при нормальном физиологическом старении. Большинство имеющихся данных получено на фоне болезни Паркинсона, Альцгеймера или других патологий. У пациентов с нейродегенеративными заболеваниями выявлена более высокая плотность GFAP-иммунореактивных клеток в ОЛ по сравнению с контролем. В частности, астроглиоз был выражен сильнее в группе с болезнью Паркинсона, чем в группе без нее, но статистически значимой межполовой разницы по этому признаку не выявлено [6, с. 6].

Выводы: Показано увеличение площади реакции на GFAP в 1 и 2 слоях обонятельной луковицы у людей старческого возраста по сравнению с пожилыми, что может свидетельствовать о развитии глиоза в процессе старения без диагностированных нейродегенеративных заболеваний. Однако эти изменения могут быть вызваны и другими возраст-ассоциированными заболеваниями, что требует дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitochondrial malfunction and atrophy of astrocytes in the aged human cerebral cortex / A. Popov, N. Brazhe, K. Morozova [et al.] // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14, № 1. – Art. 8380.
2. Pannese, E. Quantitative, structural and molecular changes in neuroglia of aging mammals: a review / E. Pannese // *European Journal of Histochemistry*. – 2021. – Vol. 65, suppl. 1. – Art. 3249.
3. From neuron-centric to glia-centric: how aging glial networks drive neurodegenerative disease / L. S. Hayashide, B. Pessoa, G. Dias [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. – 2026. – Vol. 170, № 1. – Art. e70361.
4. Microglia is associated with p-Tau aggregates in the olfactory bulb of patients with neurodegenerative diseases / M. Carmona-Abellan, I. Martinez-Valbuena, I. Marcilla [et al.] // *Neurological Sciences*. – 2021. – Vol. 42, № 4. – P. 1473–1482.
5. Zhao, D. Glial cells in the mammalian olfactory bulb / D. Zhao, M. Hu, S. Liu // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2024. – Vol. 18. – Art. 1426094.
6. Astroglisis and sexually dimorphic neurodegeneration and microgliosis in the olfactory bulb in Parkinson's disease / A. Flores-Cuadrado, D. Saiz-Sanchez, A. Mohedano-Moriano [et al.] // *NPJ Parkinson's Disease*. – 2021. – Vol. 7, № 1. – Art. 11.