

2. Нечипоренко, Н. А. Ультразвуковая диагностика заболеваний почек / Н. А. Нечипоренко, Н. А. Лопаткин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 256 с.
3. Rumack, C. M. Diagnostic ultrasound / C. M. Rumack, S. R. Wilson, J. W. Charboneau. – 5th ed. – Philadelphia : Elsevier, 2018. – 2192 p.

СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОГЛОБИНА В НЕЙРОНАХ КОРЫ И ГИППОКАМПА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИНТЕРВАЛАХ СТУПЕНЧАТОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Кохан Н.В., Зорко А.И.,
Карнюшко О.А.**

*Гродненский государственный медицинский университет
Гродно, Беларусь*

Введение. Нейроглобин представляет собой металлопротеин семейства глобинов, содержащий протопорфирин с атомом железа в центре. Он присутствует в нейронах центральной и периферической нервной системы и рассматривается как белок, обеспечивающий поступление кислорода в митохондрии метаболически активных нейронов [1, с. 644; 3, с. 2]. Роль нейроглобина при ишемии/гипоксии изучена недостаточно. В одних исследованиях указывается на его нейропротекторное действие [4, с. 1875; 6, с. 15307], другие данные опровергают его значение для выживания нейронов в условиях недостатка кислорода [2, с. 1641]. При этом содержание нейроглобина в нейронах головного мозга нетрансгенных животных при ишемии остается малоизученным.

Цель. Изучить содержание нейроглобина в нейронах теменной коры и гиппокампа крыс при ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга (ССИГМ) с различными интервалами между перевязками общих сонных артерий.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 24 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU [5, с. 112]. Моделирование ССИГМ осуществляли путем последовательной перевязки обеих общих сонных артерий (ОСА) с интервалом 7 суток (подгруппа 1), 3 суток (подгруппа 2) или 1 сутки (подгруппа 3). Контрольную группу составили ложнопериовариованные животные.

Содержание нейроглобина определяли иммуногистохимическим методом с использованием моноклональных антител Anti-Ngb antibody (Abcam, ab14748) в разведении 1:600 и набора EXPOSE (Abcam, ab80436). Оптическую плотность осадка хромогена измеряли в цитоплазме нейронов V слоя теменной коры и поля CA1 гиппокампа с помощью микроскопа Axioscop 2 plus и программы ImageWarp. Для электронно-микроскопического исследования образцы фиксировали в 1% осмиевом фиксаторе и изучали под микроскопом JEM-1011. Статистическую обработку проводили с использованием теста Краскелла-

Уоллиса с поправкой Бонферони (программа Statistica 10.0). Данные представлены как Me (LQ; UQ), различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Изменения содержания нейроглобина в нейронах теменной коры и гиппокампа в подгруппах ССИГМ были разнонаправленными (таблица 1). В 1-й подгруппе (интервал 7 суток) содержание нейроглобина увеличилось по сравнению с контролем: в теменной коре на 14% ($p < 0,05$), в гиппокампе на 16% ($p < 0,05$). Во 2-й подгруппе (интервал 3 суток) содержание белка снизилось: в теменной коре на 13% ($p < 0,05$), в гиппокампе на 7% ($p < 0,05$). В 3-й подгруппе (интервал 1 сутки) отмечено наиболее выраженное снижение: в теменной коре на 31% ($p < 0,05$), в гиппокампе на 33% ($p < 0,05$) (рисунки 1, 2 и таблица 1).

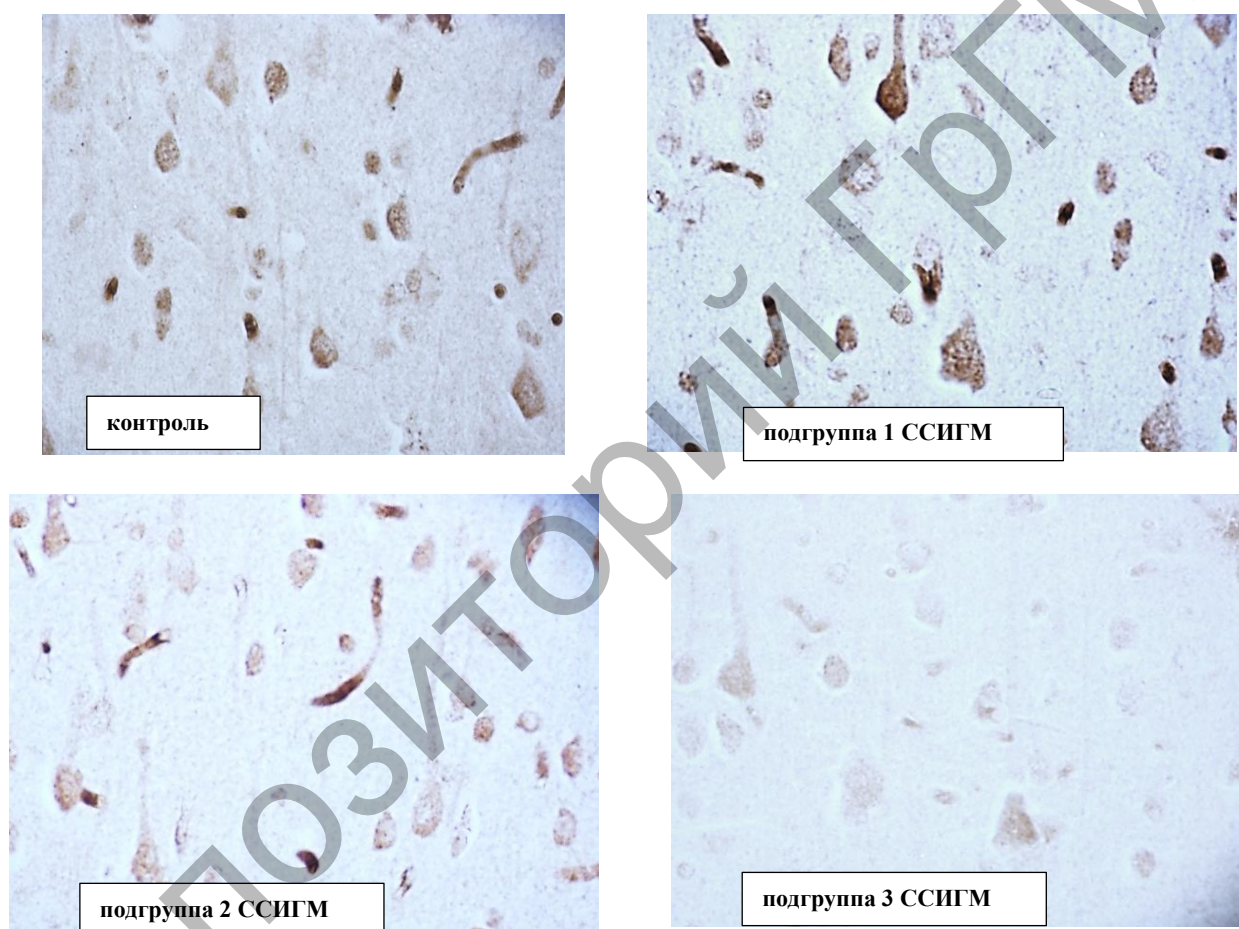


Рисунок 1 – Содержание нейроглобина в цитоплазме пирамидных нейронов теменной коры крыс со ступенчатой субтотальной ишемией головного мозга.

Иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител $\times 40$

Таблица 1 – Содержание нейроглобина в цитоплазме пирамидных нейронов теменной коры и поля СА₁ гиппокампа головного мозга крыс со ступенчатой субтотальной ишемией головного мозга (ССИГМ), Ме (LQ; UQ)

Группы		Содержание нейроглобина /единицы оптической плотности	
		теменная кора	гиппокамп
Контроль		0,167(0,162; 0,172)	0,165(0,163;0,165)
ССИГМ	1 подгруппа	0,191(0,186; 0,193)*	0,192(0,191;0,216)*
	2 подгруппа	0,145(0,142;0,152)* ⁺	0,153(0,149;0,158)* ⁺
	3 подгруппа	0,115(0,111;0,123)* ^{+#}	0,111(0,108;0,117)* ^{+#}

Примечание – * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль», ⁺ – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й подгруппой ССИГМ, [#] – $p < 0,05$ по сравнению со 2-й подгруппой ССИГМ, ССИГМ – ступенчатая субтотальная ишемия головного мозга

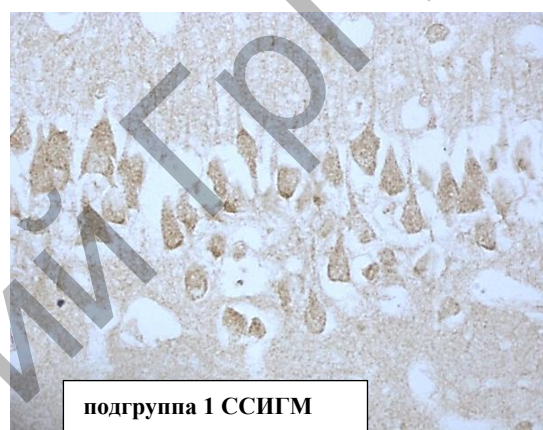
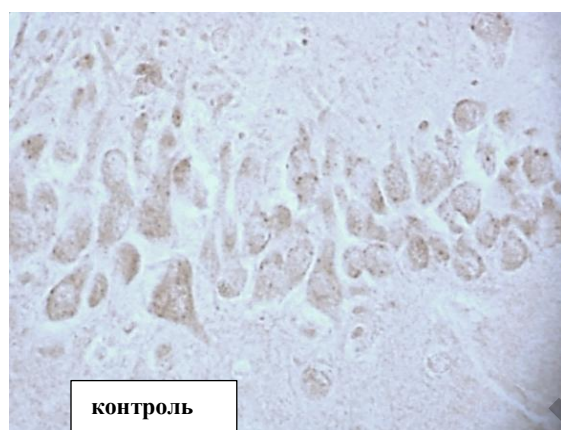


Рисунок 2 – Содержание нейроглобина в цитоплазме пирамидных нейронов поля СА₁ гиппокампа крыс со ступенчатой субтотальной ишемией головного мозга (ССИГМ). Иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител × 40

При электронно-микроскопическом исследовании в 1-й подгруппе наблюдались гигантские митохондрии в цитоплазме нейронов, что свидетельствует об их гипертрофии как механизме компенсации гипоксии. Во

2-й и 3-й подгруппах такие изменения отсутствовали, митохондрии имели обычные размеры или были редуцированы.

Таким образом, при ишемии с интервалом 7 суток, достаточным для реализации компенсаторных механизмов, содержание нейроглобина возрастает, что способствует увеличению эффективности утилизации кислорода в митохондриях и защите нейронов. При более коротких интервалах (1–3 суток) компенсаторные механизмы не успевают включиться, содержание нейроглобина снижается, и нейропротекторный эффект отсутствует [3, с. 4].

Выводы.

1. Роль нейроглобина при ишемии детально не изучена. В ряде исследований указывается на его нейропротекторное действие, другие данные опровергают его значение для выживания нейронов в условиях недостатка кислорода. В ходе проведенных исследований установлена нейропротекторная роль нейроглобина при некоторых видах ишемии головного мозга. Полученные результаты разрешают отмеченное в литературных данных противоречие о роли нейроглобина в патогенезе церебральной ишемии и показывают, что при определенных моделях ишемии головного мозга, с достаточным временем на реализацию компенсаторных механизмов, нейроглобин участвует в нейропротекции, в то время как при формах церебральной ишемии, где это время недостаточно, его содержание уменьшается и нейропротекторный эффект отсутствует. Содержание нейроглобина в нейронах коры и гиппокампа зависит от интервала между ишемическими воздействиями: максимальное увеличение отмечено при интервале 7 суток, что сопровождается гипертрофией митохондрий.

2. При сокращении интервала между окклюзиями до 1–3 суток содержание нейроглобина снижается, что коррелирует с отсутствием компенсаторных изменений на ультраструктурном уровне.

3. Нейроглобин участвует в нейропротекции только при наличии достаточного времени для активации адаптивных механизмов, что разрешает противоречие в литературных данных о его роли при ишемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зиматкин, С. М. Роль нейроглобина при церебральной ишемии/гипоксии и другой нейропатологии / С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 16, № 6. – С. 643–647.

2. Avella, G. Engineering the internal cavity of neuroglobin demonstrates the role of the haem-sliding mechanism / G. Avella, C. Ardiccioni, A. Scaglione // Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography. – 2014. – Vol. 70. – P. 1640–1648.

3. Changes in the Content of Neuroglobin in the Neurons of the Cerebral Cortex of Rats with Ischemia / L. I. Bon, N. E. Maksimovich, S. M. Zimatkin [et al.] // Journal of Cytology & Histology Research. – 2022. – Vol. 1, № 1. – P. 1–5.

4. Li, R. Neuroglobin protects neurons against oxidative stress in global ischemia / R. Li, S. Guo, S. Lee // Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. – 2010. – Vol. 30. – P. 1874–1882.

5. Каркищенко, Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. – Москва : Профиль-2С, 2010. – 241 с.

6. Neuroglobin is upregulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury / Y. Sun, K. Jin, L. Mao [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences USA. – 2018. – Vol. 98. – P. 15306–15311.

ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP70 В НЕЙРОНАХ КРЫС ПРИ АДАПТАЦИИ К ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ

Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Карнюшко О.А., Зиматкин С.М., Белоконь С.С., Петухов З.А., Зорко А.И.

*Гродненский государственный медицинский университет
Гродно, Беларусь*

Введение. Белки теплового шока (HSP) – это класс функционально сходных белков, экспрессия которых возрастает при стресс-воздействиях на клетку, включая ишемию [1, с. 60; 2, с. 2]. HSP являются молекулярными шаперонами, контролирующими формирование третичной структуры белков (фолдинг), предотвращающими их агрегацию и преждевременный протеолитический распад. При стрессе HSP связываются с денатурированными белками, поддерживая их в состоянии, способном к восстановлению, стабилизируют цитоскелет и участвуют в репарации ДНК [3, с. 1194].

Цель. Оценить содержание HSP70 в нейронах теменной коры и гиппокампа крыс с ишемией головного мозга различной степени тяжести.

Методы исследования. Исследование выполнено на 27 белых беспородных крысах-самцах массой 267 ± 16 г. Хирургические вмешательства проводили под тиопенталовым наркозом [4, с. 98]. Использованы следующие модели:

1. Частичная церебральная ишемия (ЧАСТ. ЦИ) – лигация одной общей сонной артерии (ОСА).

2. Пошаговое 90% выключение кровотока (ПДВК) – лигация обеих ОСА с интервалом 7 суток (1-я подгруппа), 3 суток (2-я подгруппа) и 1 сутки (3-я подгруппа).

3. Единовременное 90% выключение кровотока (ЕДВК) – одномоментная лигация обеих ОСА.

4. Полная церебральная ишемия (ПЦИ) – декапитация животного (забор материала через 1 час).

Контрольную группу составили ложнооперированные крысы. Содержание HSP70 определяли иммуногистохимическим методом с использованием первичных антител Anti-HSP70 antibody (Abcam, ab181606) в разведении 1:1000 и набора EXPOSE (Abcam, ab80436). Оптическую плотность осадка хромогена измеряли в цитоплазме нейронов V слоя теменной