

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]. Используются 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

коры и поля СА₁ гиппокампа с помощью микроскопа Axioscop 2 plus и программы ImageWarp. 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 $p < 0,05$ [5, с. 211].

Результаты и их обсуждение. В группе частичной ишемии (ЧАСТ. ЦИ) не выявлено изменения содержания HSP70 по сравнению с контролем ($p > 0,05$). В 1-й подгруппе ПДВК (интервал 7 суток) наблюдалось увеличение содержания HSP70 в теменной коре на 25% ($p < 0,05$), тогда как в гиппокампе показатель значимо не изменился ($p > 0,05$) (таблица 1, рисунки 1, 2).

Таблица 1 – Содержание HSP70 в цитоплазме пирамидных нейронов теменной коры и поля СА₁ гиппокампа головного мозга крыс ишемией головного мозга, Me (LQ; UQ)

Группы		Теменная кора	Гиппокамп
Контроль		0,161(0,158;0,163)	0,152(0,148;0,159)
ЧАСТ. ЦИ		0,160(0,159;0,162)	0,151(0,146;0,159)
ПДВК	1 подгруппа	0,214(0,183; 0,248)*	0,173(0,161;0,182)
	2 подгруппа	0,158(0,156;0,162)	0,139(0,124;0,152)
	3 подгруппа	0,148(0,148;0,160)	0,134(0,117;0,144)
ЕДВК		0,114(0,113;0,117)*	0,124(0,116;0,136)*
ПЦИ		0,105(0,093;0,119)*	0,097(0,091;0,100)*

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль»

ЧАСТ. ЦИ – частичная ишемия

ПДВК – Пошаговое девяностопроцентное выключение кровотока

ЕДВК – единовременное девяностопроцентное выключение кровотока

ПЦИ – полная церебральная ишемия

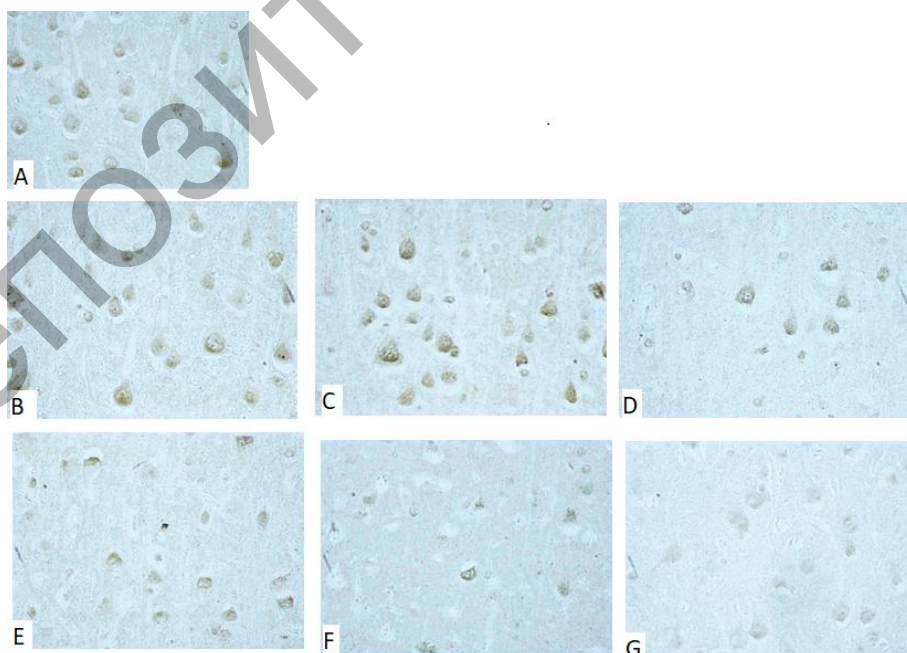


Рисунок 1 – Содержание HSP70 в цитоплазме пирамидных нейронов теменной коры крыс. Контроль(А), с частичной (ЧАСТ. ЦИ) (В), Пошаговое девяностопроцентное выключение кровотока (ПДВК)(С, D, Е), единовременное (ЕДВК)(F) и полной ишемией головного мозга(ПЦИ) (G). Увелич. 40

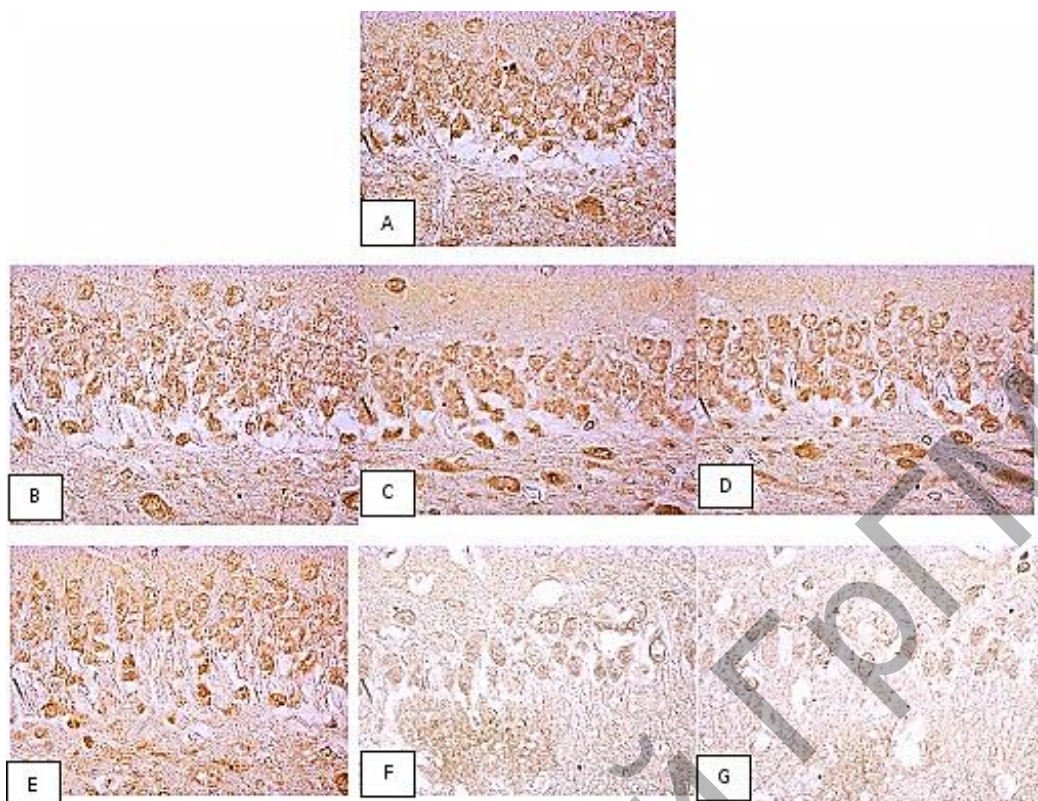


Рисунок 2 – Содержание HSP70 в цитоплазме пирамидных нейронов поля CA₁ гиппокампа крыс. Контроль (А), с частичной (ЧАСТ. ЦИ) (В), Пошаговое девяносто процентное выключение кровотока (ПДБК) (С, D, E), единовременное (ЕДБК) (F) и полной ишемией головного мозга (ПЦИ) (G).

Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение интервала между окклюзиями сосудов до 7 суток активирует компенсаторные механизмы, выражающиеся в повышении синтеза HSP70. Это способствует защите клеток от повреждения, предотвращая денатурацию белков и агрегацию полипептидных цепей [3, с. 1196; 6, с. 2240]. При более коротких интервалах (1–3 суток) адаптационные ресурсы, по-видимому, истощаются, и уровень HSP70 не возрастает. Резкое снижение содержания шаперона при тяжелых формах ишемии (ЕДБК, ПЦИ) отражает деградацию белка и неспособность клеток к синтезу защитных белков.

Выводы.

1. Содержание HSP70 в нейронах зависит от тяжести ишемического повреждения: при частичной ишемии оно не изменяется, а при наиболее тяжелых формах (единовременная и полная ишемия) – значительно снижается.
2. Максимальная активация синтеза HSP70 наблюдается при ступенчатой ишемии с интервалом 7 суток, что отражает развитие адаптивных процессов в ответ на умеренную гипоксию.
3. При сокращении интервала между окклюзиями до 1–3 суток компенсаторный синтез HSP70 не происходит, что свидетельствует о недостаточности адаптационных механизмов при более тяжелом течении ишемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь, Е. И. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // Биомедицина. – 2018. – № 2. – С. 59–71.
2. Bon, L. I. Effects of experimental cerebral ischemia on metabolic characteristics of parietal cortex neurons / L. I. Bon, N. Ye. Maksimovich, S. M. Zimatkin // Bioprocess Engineering. – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. 1–5.
3. Малышев, И. Ю. Стресс, адаптация и белки теплового шока / И. Ю. Малышев // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 9. – С. 1193–1202.
4. 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.
5. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – Москва : Практика, 1999. – 459 с.
6. LaManna, J. C. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats / J. C. LaManna, L. M. Vendel, R. M. Farrell // Journal of Applied Physiology. – 1992. – Vol. 72, № 6. – P. 2238–2243.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ КОРЫ И ГИППОКАМПА ПРИ СТУПЕНЧАТОЙ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

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

*Гродненский государственный медицинский университет
Гродно, Беларусь*

Введение. Церебральная ишемия представляет собой тяжелое нейродегенеративное состояние, приводящее к нарушению когнитивных и сенсомоторных функций. Ключевыми звеньями патогенеза являются недостаток оксигенации нейронов, эксайтотоксичность, окислительный стресс и апоптоз [1, с. 25; 4, с. 2]. До настоящего времени в литературе отсутствуют эталонные модели ишемии головного мозга (ИГМ). Моделирование путем одномоментной компрессии общих сонных артерий (ОСА) не позволяет изучить адаптационные процессы в динамике из-за тяжести повреждения. Ранее проведенные исследования показали снижение размеров перикарионов и увеличение количества гиперхромных сморщенных нейронов при острой ишемии [2, с. 61; 4, с. 3].

Цель. Анализ изменений морфологических характеристик нейронов теменной коры (ТК) и гиппокампа крыс при ступенчатой субтотальной ИГМ с различными интервалами между перевязками ОСА.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 42 самцах беспородных белых крыс массой 240 ± 20 г с соблюдением требований Директивы 2010/63/EU [3]. Ступенчатую субтотальную ИГМ осуществляли