

Ковалевская Е.В.¹, Минченко А.Г.²

Исследование влияния цитиколина на экспрессию генов пролиферации и апоптоза в культурах клеток головного мозга

¹УЗ «8-я городская поликлиника», Минск, Республика Беларусь

²Институт биохимии имени А.В. Палладина, Киев, Украина

Известно, что нейротрофины – это факторы роста, обеспечивающие выживание, рост и дифференцировку нейронов. Одним из основных индукторов ангиогенеза, а также нейрональной пролиферации, является VEGF (vascular endothelial growth factor). Поскольку нейротрофины регулируют основные функции клеток нервной ткани, анализ экс-

прессии их мРНК может помочь не только в уточнении деталей патологических процессов, происходящих в условиях ишемии, но и в оценке нейропротекторных свойств лекарственных средств, применяемых при лечении ишемии головного мозга. На данный момент точно не известно, как применение цитиколина в условиях ишемии действует на экспрессию эндогенных нейротрофинов в нервной ткани. Следовательно, такие исследования могут дать более детальные представления о механизмах действия нейропротекторов на молекулярном и клеточном уровнях.

Цель работы: исследовать влияние цитиколина на экспрессию гена VEGF в клетках головного мозга (астроцитах) в норме и в условиях ишемии.

Материалы и методы. Исследования проведены на культуре клеток нормальных астроцитов человека линии ННА/TS в норме (контроль), при отсутствии в среде на протяжении 6 часов глюкозы (модель ишемии), а также при добавлении в среду с клетками 0,02 мл и 0,04 мл цитиколина. Из клеток выделяли мРНК, проверяли ее на чистоту и стабильность, синтезировали кДНК. Относительный уровень экспрессии мРНК VEGF оценивали методом ПЦР в реальном времени, которую проводили на аппарате «Stratagene MX3000P cycler» (США). Анализ результатов выполнялся с помощью специальной компьютерной программы «Differential expression calculator».

Результаты. Было установлено, что в контрольной группе клеток экспрессия VEGF под действием цитиколина существенно не менялась, тогда как в условиях ишемии (при недостаточности в среде глюкозы) наблюдалось достоверное повышение уровня экспрессии VEGF-189 (на 44%) уже при добавлении 0,02 мл цитиколина. А при добавлении 0,04 мл цитиколина экспрессия мРНК VEGF возрастала в 2 раза по сравнению с контролем, то есть, эффект был дозозависимым. Экспрессия VEGF была повышенной и на 2-й день в контрольных клетках при добавлении цитиколина (0,02 и 0,04 мл) на 69 и 90%, соответственно.

Результаты исследования показали, что цитиколин проявляет стимулирующее влияние на экспрессию нейротропных генов только в условиях ишемии, причем уровень экспрессии существенно возрастает уже при добавлении относительно невысокой дозы (0,02 мл) цитиколина к культуре клеток.

Выводы. Установлено, что в культуре нормальных астроцитов человека под влиянием цитиколина увеличивается уровень экспрессии гена VEGF, участвующего в процессах пролиферации и апоптоза, но

ТОЛЬКО В УСЛОВИЯХ ИШЕМИИ, ПРИЧЕМ ЭТО УВЕЛИЧЕНИЕ ИМЕЕТ ДОЗОЗАВИСИ-
МЫЙ ХАРАКТЕР.