

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права

УДК 577.152.3:577.112.85:591.481.1]:616.831-005.4-018.82]-092.9

УЗЛОВА
Елизавета Валентиновна

**РЕГИОНАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АТФ-СИНТАЗЫ
И НЕЙРОГЛОБИНА В НЕЙРОНАХ МОЗГА КРЫСЫ,
СВЯЗИ С ИХ ИШЕМИЧЕСКИМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск 2023

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Зиматкин Сергей Михайлович,**
доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Артишевский Александр Александрович,**
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Кузнецова Татьяна Евгеньевна,
кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Центра электронной и световой микроскопии государственного научного учреждения «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 6 октября 2023 года в 11.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83; e-mail: uchsovet@bsmu.by; телефон: (017) 302 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан ____ сентября 2023 года.

Ученый секретарь совета Д 03.18.03
кандидат медицинских наук, доцент



Т.А. Летковская

ВВЕДЕНИЕ

АТФ-синтаза является интегральным белком внутренней мембраны митохондрий, обеспечивающим её складчатость и синтез большей части АТФ в клетке [Walker J. E., Dickson V. K., 2006; Devenish R. J. et al., 2008; Watt I. et al., 2010; Allegretti M. et al., 2015; Morales-Rios E. et al., 2015; Zhou A. et al., 2015]. Нарушения сборки и функционирования АТФ-синтазы являются причиной большого количества метаболических расстройств [Scholte H. R., 1988] и нейродегенеративных заболеваний [Kucharczyk R. et al., 2009; Federico A. et al., 2012]. В связи с этим, АТФ-синтаза является потенциальной терапевтической мишенью [Kucharczyk R. et al., 2009; Ahmad Z. et al., 2011].

Металлопротеин нейроглобин (Ngb) обеспечивает в нервных клетках депонирование и перенос кислорода к митохондриям, нейтрализацию активных форм кислорода и азота, уменьшение окислительного стресса и апоптоза [Wakasugi K. et al., 2003; Burmester T. et al., 2004; Wystub S. et al., 2004; Hankeln T. et al., 2005; Nienhaus K., Nienhaus G. U. et al., 2007; Tiso M. et al., 2011; De Marinis E. et al., 2013]. Ngb является нейропротектором и регулятором функционирования нейронов в норме и при патологии. В опытах с Ngb-трансгенными крысами было установлено, что Ngb защищает мозг при ишемии-реперфузии [Sun Y. et al., 2001; Sun Y. et al., 2003; Khan A. A. et al., 2006; Li R. C. et al., 2010; Raida Z. et al., 2013; Taylor J. M. et al., 2014].

Комплексное исследование АТФ-синтазы и Ngb нейронов разных структур мозга в норме и при ишемии является интересным вследствие участия обоих белков в поддержании кислородного гомеостаза нервных клеток [Yu Z. et al., 2012]. Сравнительное изучение регионального и клеточного распределения этих белковых комплексов в мозге может дать более полную оценку энергетическому потенциалу и депо кислорода в нейронах разных отделов мозга и взаимосвязям между ними. Полученная информация будет актуальна для дальнейших исследований роли и функций АТФ-синтазы и Ngb в норме и при нейропатологиях различного генеза.

Церебральная ишемия является одной из наиболее частых причин смерти и инвалидизации населения во всем мире и, как следствие, является проблемой чрезвычайной медицинской и социальной значимости. Последствия церебральной ишемии зависят от степени и длительности снижения мозгового кровотока, а также особенностей региональной чувствительности к ней структур головного мозга [Гусев Е. И., Скворцова В. И., 2001; Mozzaffarian D., 2016].

Все это определяет важность и актуальность изучения особенностей регионального и клеточного распределения АТФ-синтазы и Ngb в мозге, их изменений при ишемии и связей с устойчивостью/чувствительностью нейронов разных отделов мозга к церебральной ишемии.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами, темами. Исследование выполнялось в рамках проекта БРФФИ «Оценка энергетического потенциала и депо кислорода нейронов мозга для прогнозирования их чувствительности к ишемии» (2021–2023 гг., проект М21М-054, № государственной регистрации 20213456 от 20.09.2021).

Цель исследования – выяснить региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы и нейроглобина в мозге крысы и их связи с чувствительностью/устойчивостью нейронов к ишемии.

В соответствии с поставленной целью определены следующие **задачи**:

1. Выяснить региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы.
2. Установить топографическое распределение нейроглобина в мозге крысы.
3. Сравнить распределение АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов мозга крысы.
4. Оценить ишемические повреждения нейронов разных отделов мозга крысы при перевязке общих сонных артерий.
5. Установить связи между исходным содержанием АТФ-синтазы и Ngb в нейронах мозга крысы и выраженностью их ишемического повреждения.
6. Выяснить изменения содержания АТФ-синтазы и Ngb в нейронах разных отделов мозга при церебральной ишемии, вызванной перевязкой общих сонных артерий.

Объект исследования – нейроны головного мозга и шейного отдела спинного мозга взрослых лабораторных белых крыс-самцов.

Предмет исследования – содержание АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах головного мозга крыс в норме и при субтотальной церебральной ишемии, вызванной перевязкой обеих общих сонных артерий.

Научная новизна

Впервые описано топографическое распределение АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах головного и спинного мозга крысы, созданы соответствующие топографические атласы.

Проведено сравнение содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов мозга крысы.

Впервые выполнена сравнительная оценка степени ишемического повреждения нейронов разных отделов головного мозга крысы при перевязке общих сонных артерий.

Впервые установлены связи между исходным содержанием АТФ-синтазы и нейроглобина и выраженностью ишемического повреждения нейронов мозга крысы.

Впервые показаны изменения содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов головного мозга крысы при перевязке общих сонных артерий различной продолжительности.

Положения, выносимые на защиту:

1. Создан атлас регионального и клеточного распределения АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы. Среди 102 изученных типов нейронов, наименьшее содержание АТФ-синтазы имеют нейроны медиального ядра миндалина и митральные клетки обонятельных луковиц, наибольшее – рецепторные, эффекторные и ганглиозные, такие как нейроны вестибулокохлеарного ганглия и мотонейроны спинного мозга.

2. Создан атлас топографического распределения нейроглобина в нейронах мозга крысы. Среди 102 изученных типов нейронов, наименьшее содержание Ngb имеют нейроны моторной, височной коры и митральные клетки обонятельных луковиц. Содержание Ngb выше в структурах с большим филогенетическим возрастом: палеокортекс, ствол мозга, ядра мозжечка, рецепторные и эффекторные нейроны, нейроны вестибулокохлеарного ганглия и мотонейроны спинного мозга.

3. Между содержанием АТФ-синтазы и Ngb в нейронах разных отделов мозга крысы имеется положительная корреляция, что свидетельствует о топографической связи между этими белковыми комплексами. Она слабее выражена в структурах неокортекса и неocerebellума.

4. Перевязка обеих общих сонных артерий приводит к различной выраженности повреждения нейронов разных отделов мозга. Оно менее выражено в стволе мозга, и сильнее – в филогенетически более молодых структурах переднего мозга, где значительно повышается доля сморщенных нейронов и клеток-теней.

5. Исходное содержание АТФ-синтазы определяет путь, по которому пойдет ишемическая деструкция нейронов, особенно в конечном мозге. Существует нейропротекторный эффект Ngb в ранние сроки церебральной ишемии, особенно в стволе мозга и мозжечке.

6. При ишемии, вызванной перевязкой сонных артерий, наиболее быстрое и значительное снижение АТФ-синтазы отмечено в нейронах конечного мозга и гипоталамуса, наименьшее – в нейронах продолговатого мозга. При этом более значительное снижение Ngb происходит в филогенетически более старых структурах ствола мозга и при длительной ишемии, по сравнению с неокортексом.

Личный вклад соискателя ученой степени

Патентно-информационный поиск по изучаемой теме, экспериментальная и методическая части работы выполнены диссертантом лично. Данные, полученные при гистологических, иммуногистохимических, морфометрических, цитофотометрических и статистических исследованиях, обрабатывались соискателем самостоятельно. Выбор темы, постановка задач,

планирование экспериментов, обсуждение результатов исследования, написание статей осуществлялись совместно с научным руководителем.

Основные научные результаты, представленные в диссертации, изложены в статьях, материалах конференций и тезисах докладов. Региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы исследовано совместно с Зиматкиным С. М. и отражено в статьях [3-А, 8-А] (вклад диссертанта – 85 %), материалах конференций [16-А] (вклад диссертанта – 95 %), тезисах докладов [23-А, 25-А] (вклад соискателя – 95 %). Распределение нейроглобина в структурах мозга крысы изучено совместно с Зиматкиным С. М. и отражено в статьях [2-А, 7-А] (вклад диссертанта – 90 %) и материалах конференций [12-А, 13-А, 14-А, 15-А, 18-А] (вклад соискателя – 95 %). Ко-локализация АТФ-синтазы и нейроглобина в мозге крысы исследована совместно с Зиматкиным С. М. и отражена в статьях [9-А] (вклад диссертанта – 90 %), материалах конференций [17-А] (вклад соискателя – 95 %), тезисах докладов [24-А] (вклад соискателя – 95%). Гистологические нарушения и изменение содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов мозга крысы при субтотальной ишемии головного мозга исследованы совместно с Зиматкиным С. М. и отражены в статьях [10-А, 11-А] (вклад диссертанта – 90 %), материалах конференций [19-А, 20-А, 21-А, 22-А] (вклад диссертанта – 90%) и тезисах докладов [26-А] (вклад диссертанта – 95%).

Апробация диссертации и информация об использовании её результатов

Результаты диссертации доложены и обсуждены на пяти научных гистологических семинарах кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии (2018–2022 гг.), научно-практической конференции «Актуальные проблемы физиологии» (Гродно, 2019), научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии» (Гродно, 2020), итоговой научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2021), всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины-2021» (Санкт-Петербург, 2021), итоговой научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2022), всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины-2022» (Санкт-Петербург, 2022), Международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (Минск, 2022).

Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный процесс кафедры зоологии и физиологии человека и животных УО «ГрГУ имени Янки Купалы», кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ГрГМУ», кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «БГМУ», кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ГомГМУ», кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ВГМУ». Всего 10 актов о внедрении.

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 26 научных работ общим объемом 8,19 авторских листа: 11 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий (5,80 авторских листа), 11 статей в сборниках материалов конференций (1,96 авторских листа), 4 тезиса в сборниках конференций (0,43 авторских листа).

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, глав (обзор литературы, материал и методы исследования, двух глав собственных исследований), заключения, списка использованных источников (на 19 страницах) и приложений. Работа изложена на 157 страницах, включая 5 таблиц (на 15 страницах) и 67 рисунков (на 58 страницах). Список использованных источников состоит из 198 источников (из них 181 зарубежный) и 26 публикаций соискателя.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на материале от самцов беспородных белых крыс массой 230 ± 20 г, полученных из вивария Гродненского государственного медицинского университета. Всего в исследовании использовано 17 крыс. Для изучения топографического распределения АТФ-синтазы и нейроглобина в норме использован материал от 5 животных. Для изучения степени повреждения нейронов при СИГМ (субтотальной ишемии головного мозга) и изменения содержания в них АТФ-синтазы и нейроглобина использован материал от 12 животных.

Материал для изучения топографического распределения АТФ-синтазы и нейроглобина в норме – головной мозг и шейный отдел спинного мозга – забирался после одномоментной декапитации крыс.

При моделировании субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) всех крыс анестезировали путем внутривенного введения 40–50 мг/кг тиопентала натрия. По средней линии вентральной шейной поверхности выполнялся разрез длиной 2 см, обнажали общие сонные артерии. У животных опытных групп – 30-минутной СИГМ и 3-часовой СИГМ – осуществлялось одновременное лигирование обеих общих сонных артерий, в то время как у животных контрольной группы лигирование артерий не проводилось, и разрез ушивался. Выведение животных из эксперимента осуществлялось сразу после операции у крыс контрольной группы, и через 30 минут и 3 часа после операции у крыс опытных групп.

После декапитации головной мозг быстро извлекали и фронтальными разрезами делили на три части. Все образцы фиксировали

в свежеприготовленном комбинированном фиксаторе – цинк-этанол-формальдегиде при +4 °С в течение 20 часов [Коржевский Д. Э. и др., 2016]. Выбор фиксатора обусловлен тем, что при использовании цинк-этанол-формальдегида обеспечивается хорошая сохранность тканевых антигенов, не требующая процедуры теплового демаскирования перед иммуногистохимическим исследованием, хорошая выявляемость антигенов. После обезвоживания, просветления и заключения образцов в парафин, с использованием микротомы Leica 2125 RTS (Германия) изготавливались фронтальные серийные срезы толщиной 5 мкм через каждые 500 мкм, которые монтировались на покрытые адгезивом предметные стекла.

Гистологическое исследование. Первый срез из каждой серии окрашивали 0,1 % толуидиновым синим по методу Ниссля для выявления хроматофильной субстанции нейронов и идентификации структур мозга по схемам стереотаксического атласа [Paxinos G., Watson C., 2007].

Оценка хроматофилии цитоплазмы нейронов выполнялась для серийных срезов, полученных из материала животных после СИГМ. Выделяли следующие группы нейронов: нормохромные (умеренно окрашенные), гиперхромные (интенсивно окрашенные), гиперхромные сморщенные (интенсивно окрашенные со сморщенными перикарионами), гипохромные (слабо окрашенные) и клетки-тени (очень слабо окрашенные, с бледным пузырьковидным ядром). Степень чувствительности нейронов структур и отделов мозга крысы к ишемии определялась по степени этих изменений, по сравнению с контролем, а также по преобладанию при этом обратимых (увеличение числа гиперхромных и гипохромных нейронов) или необратимых изменений (увеличение числа гиперхромных сморщенных нейронов и клеток-теней) [Жаботинский Ю. М., 1985; Калимуллина Л. Б., 2002].

Характер хроматофилии оценивался в 60 областях мозга, слоях коры и ядрах (скоплениях нейронов) мозга. Для получения объективных данных оценка хроматофилии в цитоплазме нейронов и их подсчет проводились в 10 полях зрения при $\times 400$ для каждой структуры у каждого животного, что обеспечило достаточное количество данных даже для структур, характеризующихся относительно небольшим числом нейронов.

У животных с церебральной ишемией второй срез из каждой серии окрашивался толуидиновым голубым и 0,1 % ванадиевокислым фуксином (VAF) по методу Викторова, что позволяет идентифицировать фуксинофильные погибающие нейроны [Victorov I. V. et al., 2000].

Иммуногистохимическое исследование. Для оценки иммунореактивности АТФ-синтазы использовали первичные моноклональные мышинные антитела Anti-АТФ5А antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в разведении 1 : 2400 (выбрано как оптимальное по соотношению сигнал/шум из серии разведений от 1 : 100 до 1 : 3000) при +4 °С, экспозиция 20 ч, во влажной камере. При изучении топографического распределения АТФ-синтазы

в норме, для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436). При изучении иммунореактивности АТФ-синтазы при СИГМ, для выявления связавшихся первичных антител использовали набор Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (Великобритания, Abcam, ab236466).

Для определения иммунореактивности нейроглобина применяли первичные моноклональные мышинные антитела (Anti-Ngb antibody фирмы Abcam, Великобритания, ab. 197670) в разведении 1 : 600 (выбрано как оптимальное из серии разведений от 1 : 100 до 1 : 3000) при +4 °С, экспозиция 20 ч, во влажной камере. При изучении топографического распределения нейроглобина в норме, для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436). При изучении иммунореактивности нейроглобина при СИГМ, для выявления связавшихся первичных антител использовали набор Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (Великобритания, Abcam, ab236466).

При проведении иммуногистохимического исследования использовали контроли. В качестве положительного контроля использовали ткани с известным высоким содержанием АТФ-синтазы (миокард) и Ngb (сетчатка глаза). В качестве отрицательного контроля использовали срезы, которые вместо первичных антител обрабатывали нормальной кроличьей сывороткой (иммунопозитивная окраска в них отсутствовала). Дополнительным внутренним отрицательным контролем служили оболочки мозга и ядра нейронов, которые не должны были окрашиваться.

Иммунореактивность АТФ-синтазы и нейроглобина в норме изучена в 102 структурах мозга крысы. Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы и нейроглобина при СИГМ изучено в 25 структурах мозга крысы.

Цитофотометрическое исследование. Изучение гистологических и иммуногистохимических препаратов, их микрофотографирование и цитофотометрию проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Цитофотометрическое исследование иммуногистохимических препаратов подразумевало измерение оптической плотности полученного осадка хромогена (диаминобензидина) в цитоплазме нейронов, на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакции. Иммунореактивность выражали в единицах оптической плотности $\times 10^3$ (условных единицах – у.е.).

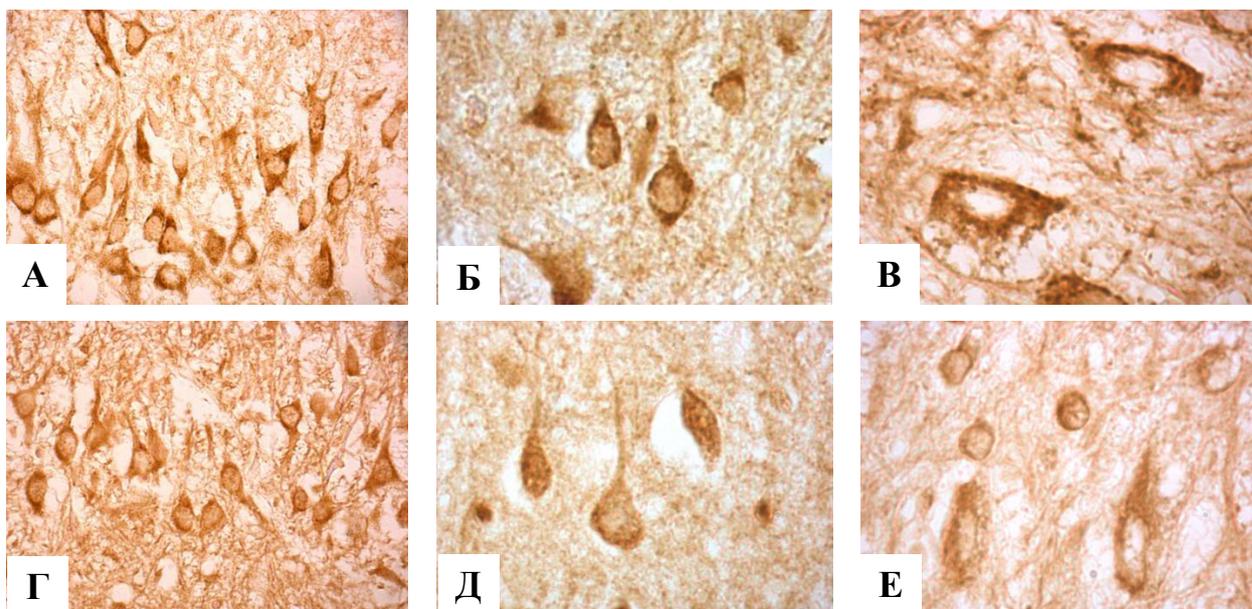
Статистическая обработка цифровых данных. В результате исследований получены количественные непрерывные данные, которые обрабатывали методами описательной и непараметрической статистики

с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер AXAR207F394425FA-Q).

Выбор непараметрических методов обусловлен использованием малых выборок, что не гарантировало нормальное распределение данных [Медик В. А., Токмачев М. С., 2021]. Для каждого показателя определяли значение медианы (Me), нижнего (LQ) и верхнего квартилей (UQ). При изучении корреляций между АТФ-синтазой и Ngb вычисляли коэффициент отношения их содержания. Объекты исследования набирали в группы независимо, поэтому сравнение групп по одному признаку проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann–Whitney U-test) и критерия Краскела–Уоллиса (Kruskal–Wallis H-test) [Медик В. А., Токмачев М. С., 2021]. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$) [Медик В. А., Токмачев М. С., 2021]. Для изучения связи между АТФ-синтазой и Ngb использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r) ($p < 0,05$) [Медик В. А., Токмачев М. С., 2021].

Полученные результаты, их анализ и обсуждение

Установлено, что АТФ-синтаза локализована в цитоплазме всех нейронов и характеризуется гетерогенным распределением в структурах головного мозга и шейного отдела спинного мозга крысы. Для большинства нейронов характерно относительно умеренное содержание АТФ-синтазы в цитоплазме. Наиболее высокая гетерогенность распределения АТФ-синтазы характерна для конечного мозга, что, вероятно, связано с большим числом и функциональным разнообразием структур конечного мозга. Высокий уровень АТФ-синтазы выявлен в рецепторных и эффекторных нейронах ствола мозга и нейронах ядер мозжечка, а также крупных ганглиозных нейронах мозга. Высокий уровень АТФ-синтазы в нейронах ствола мозга объясняется прежде всего характером расположенных здесь структур: они включают ядра черепных нервов и жизненно важные центры, что предполагает значительную функциональную нагрузку и, вероятно, требует хорошо развитого энергетического аппарата. В коре мозжечка высокое содержание АТФ-синтазы определяется в клетках Пуркинье (КП). Это можно объяснить очень большим количеством синаптических связей КП, что без сомнения требует существенных энергетических затрат, а также большим размером этих нейронов. Однако в зависимости от участка коры мозжечка содержание АТФ-синтазы сильно различается. Содержание АТФ-синтазы в нейронах ядер мозжечка более высокое, чем в КП. В спинном мозге содержание АТФ-синтазы наибольшее в мотонейронах передних рогов. В белом веществе АТФ-синтаза содержится только в отростках нейронов – осевых цилиндрах, но не в миелиновых оболочках (рисунок 1, А–В).



Цифровая микрофотография, увелич. 400 (А, Г) и 1000 (Б, В, Д, Е)

Рисунок 1 – Содержание АТФ-синтазы (А, Б, В) и Ng2 (Г, Д, Е) в нейронах гиппокампа (А, Г), V слоя височной коры (Б, Д) и латерального ядра мозжечка (В, Е)

Иммунореактивность Ng2 выявляется преимущественно в цитоплазме нейронов, а также в глиальных клетках, особенно в эпендимоцитах желудочков и каналов мозга. В ядрах нейронов иммуноокрашивание не наблюдалось. Ng2 содержится в нейронах всех отделов головного и шейного отдела спинного мозга, что указывает на повсеместное распространение Ng2 в сером веществе головного и спинного мозга, что согласуется с данными Wustub S. et al., 2003, а также указывает на важность Ng2 и его необходимость для работы нейронов и нервной системы. Преобладают структуры с его низким-умеренным количеством. Существует тенденция к увеличению содержания Ng2 в нейронах отделов головного мозга крысы в передне-заднем направлении, что совпадает с возрастанием филогенетического возраста структур. Однако данная тенденция не соответствует биохимическим данным о концентрации Ng2 в конкретных отделах мозга [Mammen P. P. A. et al., 2002; Hundahl C. A. et al., 2010; Hundahl C. A. et al., 2013; Fabrizius A. et al., 2016], возможно, потому что в образцы мозга для биохимического анализа попадают не только тела нейронов, но и нейропиль, глиальные клетки, белое вещество и кровеносные сосуды. В конечном мозге содержание Ng2 выше в палеокортексе, чем в неокортексе, при этом содержание возрастает от наружных к филогенетически более древним глубоким слоям коры. Высокая гетерогенность распределения Ng2 в конечном мозге, вероятнее всего, является следствием разного филогенетического возраста структур, их высокого структурного и функционального разнообразия. Также высоким содержанием Ng2 характеризуются филогенетически более старые эффекторные и рецепторные нейроны мозга. Среди структур мозжечка

вставочное ядро и КП пирамиды демонстрируют наибольший уровень Ngf и относятся к древней части мозжечка, палеocerebellуму (спинocerebellуму), связанному со спинным мозгом. В шейном отделе спинного мозга содержание Ngf значительно выше в мотонейронах по сравнению со вставочными нейронами. Кроме того, наиболее интенсивное иммуоокрашивание наблюдается в пластинках серого вещества с VI по X, что объясняется их структурными и функциональными особенностями: их нейроны преимущественно крупные, отвечают за связь между левой и правой частями спинного мозга, между сегментами и иннервируют мускулатуру туловища (рисунок 1-Г-Е).

Между содержанием АТФ-синтазы и Ngf в нейронах разных отделов мозга крысы имеется положительная корреляция ($r=0,57$; $p<0,01$), что свидетельствует о наличии пространственной связи между этими белками. Однако она слабо выражена в структурах неокортекса и неocerebellума ($r=0,29$; $p>0,05$) (рисунок 2). Наряду с сообщениями о локализации Ngf преимущественно вблизи/в митохондриях [Hundahl C. A. et al., 2010; Chan A. S. Y. et al., 2012; Yu Z. et al., 2012] и перекрытии паттернов иммуомечения АТФ-синтазы- β и Ngf [Lechauve C. et al., 2012], это дает основание предполагать их пространственную и функциональную связь, особенно в нейронах филогенетических старых отделов мозга. Соотношение содержания АТФ-синтазы и Ngf также связано с расположением нейронов в рефлекторных дугах, но не зависит от их медиаторной природы.

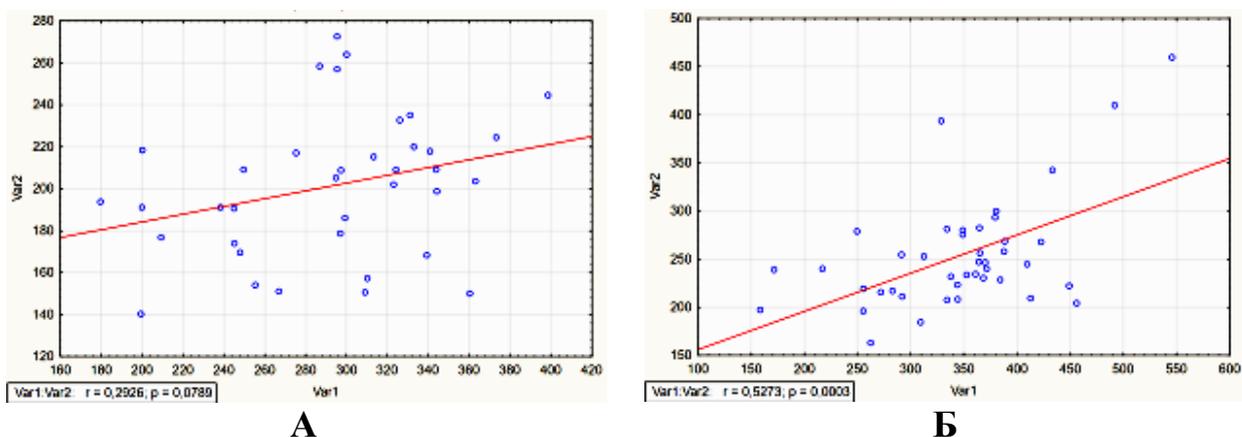


Рисунок 2 – Диаграммы рассеяния для выяснения корреляции между АТФ-синтазой и Ngf в неокортексе и неocerebellуме (А) и в филогенетически более старых отделах ствола мозга (Б)

Нейроны разных отделов мозга крысы по-разному реагируют на ишемию, вызванную перевязкой общих сонных артерий, что приводит к их обратимым и/или необратимым гистологическим изменениям. Наиболее уязвимыми к СИГМ являются нейроны филогенетически более молодых отделов — конечного мозга. Однако в пределах конечного мозга чувствительность нейронов также неоднородна, о чем ранее сообщалось и другими авторами на примере различной чувствительности полей

гиппокампа и зубчатой извилины к ишемии, выявленной с помощью световой, электронной микроскопии и биохимическими методами [Kirino T., Sano K., 1984; Kuroiwa T. et al., 1990; Horn M., Scholte W., 1992; Ferrer I. et al., 1995]. В пределах конечного мозга особенно уязвимы неокортекс и периаллокортекс. Структуры промежуточного мозга также характеризуются неоднородной чувствительностью нейронов к ишемии. При этом существенные различия между чувствительностью структур таламуса и гипоталамуса не обнаружены. Относительно более устойчивыми к ишемии являются нейроны среднего мозга, моста и продолговатого мозга. В мозжечке более чувствительными к субтотальной ишемии головного мозга являются КП коры. О высокой чувствительности КП к ишемии *in vivo* и *in vitro* сообщалось и предыдущими авторами [Brasko J. et al., 1995; Fonnum F., Lock E. A., 2000; Horn M., Scholte W., 1992]. Кроме того, полученные нами данные согласуются с информацией Horn & Scholte о несколько меньшей чувствительности КП к ишемии, в сравнении с нейронами гиппокампа поля CA1.

При субтотальной ишемии степень и скорость изменения содержания АТФ-синтазы в структурах головного мозга крысы сильно отличаются. Наиболее значительное и быстрое снижение содержания АТФ-синтазы характерно для структур конечного мозга крысы – височной, ретроспленальной агранулярной коре, а также ядер гипоталамуса, на которые приходится наибольшая степень ишемического воздействия в данной экспериментальной модели. Однако и здесь скорость и степень снижения содержания АТФ-синтазы разнообразны. О различиях чувствительности к ишемии нейронов теменной коры и гиппокампа сообщалось ранее [Бонь Е. И. и др., 2018; Бонь Е. И. и др., 2019]. Полученные данные об изменении иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах среднего и продолговатого мозга указывают на меньшие изменения содержания АТФ-синтазы при перевязке общих сонных артерий, что, возможно, связано с сохранением коллатерального кровоснабжения за счёт сохранившихся спинальных артерий. Тем не менее, была отмечена структура – черная субстанция, для которой обнаружено резкое снижение содержания АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ. Подобный характер изменений, вероятно, обусловлен большей долей чувствительных к ишемии образующих эти ядра дофаминергических нейронов [Chung C. Y. et al., 2005] и меньшей митохондриальной массой в этих нейронах, в сравнении с другими структурами среднего мозга (в частности, в сравнении с верхней областью покрышки) [Liang C. L. et al., 2007]. Однако после 3-часовой СИГМ содержание АТФ-синтазы в них частично нормализуется, возможно, за счёт коллатерального кровообращения из позвоночных и базилярной артерий. В нейронах структур мозжечка иммунореактивность АТФ-синтазы не изменяется при 30-минутной субтотальной ишемии, но уже при 3-часовой СИГМ появляются изменения:

в ядрах зарегистрировано снижение иммунореактивности, в то время как реакция КП различается в зависимости от участка коры мозжечка (рисунок 3).

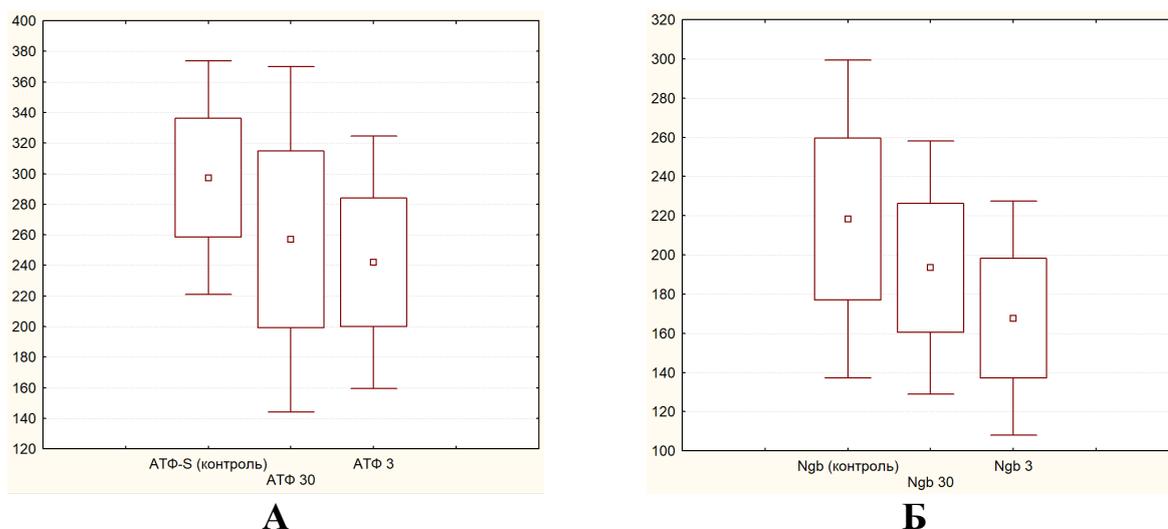


Рисунок 3 – Диаграммы размаха АТФ-синтазы (А) и Ngb (Б) во всех исследованных группах

Изменения Ngb-иммунореактивности после СИГМ обнаружены в нейронах всех отделов мозга крысы. Это свидетельствует об общей неустойчивости кислородного депо большинства нейронов мозга к ишемическому воздействию. В нейронах большинства исследованных структур происходит уменьшение содержания Ngb, особенно в филогенетически более старых структурах ствола мозга и при длительной ишемии, по сравнению с корой конечного мозга и мозжечка. Обнаруженные изменения позволяют говорить и о разной устойчивости кислородного депо в структурах в зависимости от филогенетического возраста. Меньшая чувствительность кислородного депо филогенетически молодых структур при ишемии ранее отмечалась в литературе [Shang A. et al., 2006]. Структуры без изменения Ngb составляют малую долю в мозге. В отдельных типах нейронов (митральные клетки обонятельных луковиц) через 30 минут после начала ишемии происходит даже временное увеличение содержания нейроглобина, с последующей нормализацией через 3 часа. Важно отметить редкость случаев увеличения Ngb относительно контрольного уровня после 3-часовой субтотальной ишемии головного мозга, что согласуется с данными других исследований о повышении Ngb в нервных клетках с нормальной экспрессией данного белка [Schmidt-Kastner R. et al., 2006]. Как известно из литературных данных, увеличение экспрессии Ngb при ишемии/гипоксии наблюдалось у Ngb-сверхэкспрессирующих животных/в отдельных культурах клеток [Sun Y. et al., 2001; Sun Y. et al., 2003; Khan A. A. et al., 2006; Wang X. et al., 2008; Li R. C. et al., 2010; Raida Z. et al., 2013; Taylor J. M. et al., 2014], но не в нетрансгенных организмах. Неустойчивость кислородного депо зависит от длительности ишемического воздействия. После 3-часовой

ишемии содержание Ngb в нейронах большинства структур снижается более значительно, чем после 30-минутной ишемии. То есть нейроны не могут поддерживать кислородное депо на прежнем уровне длительное время (рисунок 3).

Соотношение характера изменений содержания АТФ-синтазы и Ngb после экспериментальной ишемии крайне важно, т. к. АТФ-синтаза является «носителем» митохондриальной поры [Gerle C. et al., 2016; Mnatsakanyan N., Jonas E. A., 2020], открытие которой влечет за собой смерть клетки [Mnatsakanyan N., Jonas E. A., 2020], а Ngb, в свою очередь, способен блокировать открытие митохондриальных пор. Сохранение или увеличение уровня Ngb при субтотальной ишемии обеспечивает возможность выполнения им нейропротекторных функций, в т. ч., вероятнее всего, при перемещении в митохондрии, даже при небольших изначальных физиологических концентрациях. Однако излишне высокое содержание АТФ-синтазы в условиях ишемии может привести к ее диссоциации и активации необратимых процессов. Нейропротекторный эффект Ngb при субтотальной ишемии головного мозга был продемонстрирован на примере нейронов II слоя пириформной коры и митральных клеток обонятельных луковиц. В пириформной коре снижение количества АТФ-синтазы с сохранением содержания Ngb, вероятнее всего, привело как к возможности проникновения Ngb в митохондрии через митохондриальные поры, так и сохранению возможности регуляции поры, без запуска необратимых процессов. В митральных клетках резкое увеличение количества АТФ-синтазы после 30-минутного ишемического воздействия привело к появлению сморщенных, гипохромных нейронов, но уже после 3 часов, благодаря стабильному повышенному уровню Ngb, был достигнут нейропротекторный эффект, в т. ч. за счёт снижения содержания АТФ-синтазы до контрольных значений. После 30-минутного ишемического воздействия корреляция между количествами АТФ-синтазы и Ngb исчезает ($r=0,167$, $p=0,426$), однако уже после 3-часового воздействия она восстанавливается ($r=0,516$, $p=0,008$). Для Ngb характерно более равномерное, а через 3 часа и более значительное постишемическое снижение его содержания в нейронах мозга, по сравнению с АТФ-синтазой. Можно предположить, что если нейроны не достигают баланса между активацией митохондриальных пор, проникновением в митохондрии Ngb и регуляцией этих пор самим Ngb, то в нейронах развиваются разнообразные обратимые и необратимые деструктивные изменения. При более позднем начале снижения содержания уровня АТФ-синтазы и быстром снижении количества Ngb (уже после 30-минутной субтотальной ишемии) отмечается увеличение доли клеток-теней, а после 3-часовой ишемии – увеличение долей гиперхромных сморщенных и гипохромных клеток, и возрастание числа клеток-теней. Такие изменения отмечены в клетках Пуркинью околочелючка коры мозжечка.

Согласно характеру и степени ишемического повреждения нейронов и изменения содержания в них АТФ-синтазы и Ngb при ишемии можно выделить несколько основных групп нейронов. Прежде всего, это нейроны с незначительными и обратимыми ишемическими деструктивными повреждениями. К ним относятся только нейроны II слоя пириформной коры, которые сочетают плавное снижение содержания АТФ-синтазы с сохранением уровня Ngb. При плавном снижении содержания АТФ-синтазы, а также плавном снижении количества Ngb при 3-часовом ишемическом воздействии отмечаются более значительные изменения, чем в предыдущей группе, но все же эти изменения обратимы – увеличение числа гипохромных и гиперхромных нейронов. К подобным структурам относятся латеральное и промежуточное ядра мозжечка. При сохранении количества Ngb и позднем увеличении содержания АТФ-синтазы, как, например, происходит в клетках Пуркинье простой долики коры мозжечка, происходит возрастание долей гипохромных нейронов и клеток-теней. При равномерном снижении количества Ngb с относительно поздним снижением содержания АТФ-синтазы (в нейронах II слоя СА2 поля гиппокампа) по мере увеличения продолжительности воздействия появляются гиперхромные сморщенные нейроны. При сохранении уровней АТФ-синтазы и Ngb, как это происходит в вентральной области покрышки и спинальном ядре тройничного нерва, после 30-минутного ишемического воздействия появляются первые обратимые изменения, а после 3-часового воздействия проявляются в т.ч. и необратимые, выражающиеся в увеличении количества сморщенных клеток. Синхронное снижение количества обоих белков (во II слое СА3 поля гиппокампа, зубчатой извилины, в медиальном габенулярном ядре таламуса, гистаминергическом ядре E2 и гигантоцеллюлярном ядре) приводит к ранним необратимым изменениям уже через 30 минут после субтотальной ишемии и их усугублению после 3-часовой ишемии, в т.ч. с появлением клеток-теней. В митральных клетках обонятельной луковицы после 30-минутной субтотальной ишемии происходит резкое увеличение численности нейронов сморщенных, гипохромных и клеток-теней, что совпадает с повышением содержания в них АТФ-синтазы и увеличением количества Ngb. Однако после 3-часового воздействия остается лишь увеличенное количество гиперхромных сморщенных нейронов, что сопровождается снижением в них АТФ-синтазы и сохранением повышенного содержания Ngb. В остальных исследованных структурах, характеризующихся весьма выраженными обратимыми и необратимыми изменениями хроматофилии цитоплазмы, общим является снижение количества Ngb при разнообразных изменениях со стороны АТФ-синтазы. Таким образом, благоприятным условием для нейронов в условиях ишемии является сохранение уровня Ngb с синхронным уменьшением количества АТФ-синтазы. Одновременное сохранение уровней АТФ-синтазы и Ngb при субтотальной ишемии

головного мозга не защищает нейроны от необратимых изменений. Неблагоприятный исход, заключающийся в появлении сморщенных нейронов и клеток-теней, происходит при уменьшении содержания Ngb.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Создан атлас топографического распределения АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы. Среди 102 типов изученных нейронов мозга, наименьшее содержание АТФ-синтазы имеют нейроны медиального ядра миндалины и митральные клетки обонятельных луковиц (оптическая плотность 159–163 у.е.), наибольшее содержание – рецепторные, эффекторные и ганглиозные, такие как нейроны вестибулокохлеарного ганглия и мотонейроны спинного мозга (515–545 у.е.) [3-А, 8-А, 16-А, 23-А, 25-А].

2. Создан атлас топографического распределения нейроглобина в нейронах мозга крысы. Среди 102 типов изученных нейронов мозга наименьшее содержание Ngb имеют нейроны моторной, височной коры и митральные клетки обонятельных луковиц (140–160 у.е.). Содержание Ngb выше в структурах с большим филогенетическим возрастом: палеокортекс, ствол мозга, ядра мозжечка, рецепторные и эффекторные нейроны, нейроны вестибулокохлеарного ганглия и мотонейроны спинного мозга (оптическая плотность 459–497 у.е.) [2-А, 7-А, 12-А, 13-А, 14-А, 15-А, 18-А].

3. Между содержанием АТФ-синтазы и Ngb в нейронах разных отделов мозга крысы имеется положительная корреляция ($r=0,57$; $p<0,01$), что свидетельствует о топографической связи между этими белковыми комплексами. Однако она слабее выражена в структурах неокортекса и неocerebellума ($r=0,29$; $p>0,05$) [9-А, 17-А, 24-А].

4. Перевязка обеих общих сонных артерий приводит к различной скорости и степени повреждения нейронов разных отделов мозга. Оно менее выражено в стволе мозга и сильнее – в филогенетически более молодых структурах переднего мозга, где значительней повышается доля сморщенных нейронов и клеток-теней (с 1 % до 43 % и с 0 % до 3,6 % соответственно, в VI слое ретроспленальной агранулярной коры; $p<0,05$) [10-А, 11-А, 19-А, 20-А, 26-А].

5. Исходное содержание АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы положительно коррелирует с числом ишемических гиперхромных нейронов ($r=0,43$; $p=0,04$) и отрицательно коррелирует с количеством клеток-теней ($r=-0,43$; $p=0,04$) в этих же отделах головного мозга через 30 минут после перевязки общих сонных артерий. Следовательно, АТФ-синтаза определяет путь, по которому пойдет ишемическая деструкция нейронов, особенно в конечном мозге, где её высокий исходный уровень способствует

сморщиванию нейронов ($r=0,63$; $p=0,01$), а низкий – превращению в клетки-тени ($r=-0,91$; $p=0,002$) [10-А, 11-А, 21-А, 22-А].

Установлен нейропротекторный эффект Ngb при субтотальной ишемии у крыс, который подтверждается отрицательной корреляцией между исходным содержанием Ngb в нейронах мозга и количеством клеток-теней в этих же структурах после 30-минутной ишемии ($r=-0,505$, $p=0,01$), особенно в стволе мозга и мозжечке ($r=-0,66$, $p=0,02$) [10-А, 11-А, 22-А].

6. При ишемии, вызванной перевязкой сонных артерий, наиболее быстрое (уже через 30 мин) и значительное снижение АТФ-синтазы отмечено в нейронах конечного мозга: нейроны V слоя височной коры (от 315 до 195 у.е.; $p<0,05$), а также в ядрах гипоталамуса: гистаминергические нейроны ядра E2 (от 361 до 253 у.е.; $p<0,05$); наименьшее – в нейронах продолговатого мозга, таких как нейроны верхней области покрышки (от 271 до 267 у.е.; $p>0,05$). При этом более значительное снижение содержания Ngb происходит в филогенетически более старых структурах ствола мозга и при длительной ишемии: например, в нейронах латерального ретикулярного ядра (от 291 до 202 у.е.; $p<0,05$) и в гистаминергических нейронах ядра E2 (от 305 до 199 у.е.; $p<0,05$), по сравнению с филогенетически молодой корой конечного мозга (от 165 до 146 у.е.; $p>0,05$ в нейронах III слоя височной коры). Благоприятным условием для нейронов в условиях ишемии является сохранение Ngb при уменьшении содержания АТФ-синтазы, а неблагоприятным – снижение Ngb [10-А, 11-А, 21-А, 22-А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Полученные научно обоснованные данные могут использоваться при проведении дальнейших исследований роли АТФ-синтазы и нейроглобина в мозге в норме и при патологии, а также при исследовании причин неодинаковой чувствительности нейронов различных структур мозга крысы к ишемическому воздействию.

2. Материалы работы могут быть использованы в учебном процессе для расширения фундаментальных знаний студентов высших учебных заведений медико-биологического профиля о закономерностях распределения белков АТФ-синтазы и нейроглобина в структурах мозга крысы в норме и при церебральной ишемии и для углубления знаний о чувствительности различных структур мозга крысы к ишемическому воздействию.

3. Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный процесс в ГрГМУ, ГрГУ им. Я. Купалы, БГМУ, ГомГМУ и ВГМУ (10 актов о внедрении).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых журналах

1-А. Узлова, Е. В. Нейроглобин: строение, функции, локализация в мозге в норме и при патологии (обзорная статья) / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Новости мед.-биол. наук. – 2019. – Т. 19, № 1. – С. 91–96.

2-А. Узлова, Е. В. Распределение нейроглобина в структурах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Новости мед.-биол. наук. – 2019. – Т. 19, № 4. – С. 43–47.

3-А. Узлова, Е. В. Распределение АТФ-синтазы в структурах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Вестник Смоленской гос. мед. акад. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 11–16.

4-А. Узлова, Е. В. АТФ-синтаза клеток (обзорная статья) / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Успехи совр. биологии. – 2020. – Т. 140, № 5. – С. 1–10 (Uzlova, E. V. Cellular ATP Synthase / E. V. Uzlova, S. M. Zimatkin // Biology Bulletin Reviews. – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 134–142).

5-А. Узлова, Е. В. АТФ-синтаза митохондрий (обзорная статья) / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2020. – Т. 18, № 6. – С. 648–654 (обзорная статья).

6-А. Узлова, Е. В. Нейропротекторное действие нейроглобина при гипоксии/ишемии (обзорная статья) / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Сибирский науч. мед. журн. – 2021. – Т. 41, № 2. – С. 33–39.

7-А. Узлова, Е. В. Нейроглобин в нейронах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Сибирский науч. мед. журн. – 2021. – Т. 41, № 4. – С. 30–39.

8-А. Узлова, Е. В. АТФ-синтаза в нейронах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Экспериментальная биология и биотехнология. – 2021. – № 3. – С. 17–27.

9-А. Узлова, Е. В. Ко-локализация АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2022. – Т. 20, № 4. – С. 433–439.

10-А. Узлова, Е. В. Изменения хроматофилии цитоплазмы, содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов мозга крысы при субтотальной церебральной ишемии / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Новости мед.-биол. наук. – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 219–226.

11-А. Uzlova, L. V. ATP Synthase and Neuroglobin as Factors Determining the Path of Neuronal Destruction in Cerebral Ischemia / L. V. Uzlova, S. M. Zimatkin, L. I. Bon // Biomedical Journal of Scientific & Technical Research. – 2022. – Vol. 46, № 3. – P. 37521–37533.

Материалы конференций

12-А. Узлова, Е. В. Гетерогенное распределение нейроглобина в структурах мозга крысы: возможное функциональное значение / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Актуальные проблемы физиологии : сборник

материалов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию кафедры нормальной физиологии ГрГМУ (23 мая 2019 г.) [Электронный ресурс] / ГрГМУ; редкол.: В. В. Зинчук [и др.]. – Гродно, 2019. – С. 246–249.

13-А. Узлова, Е. В. Иммуногистохимическое исследование распределения нейроглобина в структурах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Актуальные проблемы биохимии : сборник материалов научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию создания кафедры биологической химии ГрГМУ (31 мая 2019 г.) [Электронный ресурс] / ГрГМУ; редкол.: В. В. Лелевич [и др.] – Гродно, 2019. – С. 301-304.

14-А. Узлова, Е. В. Иммуногистохимическое изучение распределения нейроглобина в структурах мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Биохимия и молекулярная биология. Выпуск 3. Механизмы регуляции процессов жизнедеятельности в норме и при патологии : сборник научных трудов / РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений национальной академии наук Беларуси». – Минск, 2019. – С. 321–325.

15-А. Узлова, Е. В. Иммуногистохимическое исследование распределения нейроглобина в структурах мозга крысы / Е. В. Узлова // Наука-2019 [Электронный ресурс] : сб. науч. ст. В 2 ч. Ч. 1 / ГрГУ им. Я. Купалы; редкол.: Ю. Я. Романовский (гл. ред.) [и др.]. – Гродно: ГрГУ, 2019. – С. 46–48.

16-А. Узлова, Е. В. Региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Актуальные проблемы медицины : сборник материалов итоговой научно-практической конференции (24 января 2020 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно : ГрГМУ, 2020. – С. 718–721.

17-А. Узлова, Е. В. Закономерности ко-локализации нейроглобина и АТФ-синтазы в нейронах структур мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Актуальные проблемы экологии : сб. науч. ст. / Гродн. гос. ун-т им. Янки Купалы ; редкол.: И. Б. Заводник (гл. ред.), А. Е. Каревский, О. В. Павлова. – Гродно : ГрГУ. – 2020. – С. 114–115.

18-А. Узлова, Е. В. Особенности регионального распределения Ngb в нейронах структур мозга крысы / Е. В. Узлова // Актуальные проблемы медицины : сборник материалов итоговой научно-практической конференции (28–29 января 2021 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. Е. Н. Кроткова. – Гродно : ГрГМУ, 2021. – С. 866–869.

19-А. Узлова, Е. В. Исследование степени ишемического повреждения разных популяций нейронов мозга крысы после 30-минутной субтотальной ишемии / Е. В. Узлова, Н. А. Валько // Современные достижения молодых ученых в медицине – 2021 : сборник материалов VIII Республиканской научно-практической конференции с международным участием (26 ноября 2021 г.) [Электронный ресурс] / редкол.: Е. Н. Кроткова (отв. ред.) [и др.]. –

Электрон. текстовые дан. и прогр. (объем 4,7 Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2021. – С. 279–282.

20-А. Узлова, Е. В. Оценка чувствительности нейронов разных отделов мозга крыс к 3-часовой субтотальной ишемии / Е. В. Узлова, Н. А. Валько, С. М. Зиматкин // Актуальные проблемы медицины : сборник материалов итоговой научно-практической конференции (27 января 2022 г.) [Электронный ресурс] / отв. ред. С. Б. Вольф. – Гродно : ГрГМУ, 2022. – С. 273–275.

21-А. Узлова, Е. В. Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы при субтотальной ишемии головного мозга / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин, Е. И. Бонь // Достижения морфологии: внедрение новых технологий в образовательный процесс: сб. науч. ст., посвящ. 75-летию профессора П. Г. Пивченко (сентябрь 2022 г.) [Электронный ресурс] / под общ. ред. Н. А. Трушель. – Минск : БГМУ, 2022. – С. 348–351.

22-А. Узлова, Е. В. Изменения содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов мозга крысы при церебральной ишемии / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Новости медико-биологических наук. – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 140–141.

Тезисы

23-А. Узлова, Е. В. Региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы в мозге крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Физико-химическая биология как основа современной медицины : тезисы докладов участников Республиканской конференции с международным участием, посвященной 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной (Минск, 29 мая 2020 г.) / под ред. А. Д. Тагановича, В. В. Хрусталева, Т. А. Хрусталевой. – Минск : БГМУ, 2020. – С. 194–195.

24-А. Узлова, Е. В. Региональная и клеточная ко-локализация АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах структур мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Теория и практика современной морфологии : сборник научных работ (г. Днепр, Украина). – 2020. – С. 110–112.

25-А. Узлова, Е. В. Особенности регионального распределения АТФ-синтазы в нейронах структур мозга крысы / Е. В. Узлова, С. М. Зиматкин // Актуальные проблемы биомедицины – 2021: Материалы XXVII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием (Санкт-Петербург, 25–26 марта 2021 г.) / отв. ред. Т. Д. Власов. – СПб. : РИЦ ПСПбГМУ, 2021. – С. 252–253.

26-А. Узлова, Е. В. Сравнительная оценка чувствительности нейронов мозга крысы к субтотальной ишемии / Е. В. Узлова, Н. А. Валько // Актуальные проблемы биомедицины – 2022: Материалы XXVIII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием (Санкт-Петербург, 24–26 марта 2022 г.) / отв. ред. Т. Д. Власов. – СПб. : РИЦ ПСПбГМУ, 2022. – С. 308–309.

РЭЗІЮМЭ

Узлова Лізавета Валянцінаўна Рэгіянальнае размеркаванне АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў нейронах мозгу пацукоў, сувязі з іх ішэмічным пашкоджаннем

Ключавыя словы: АТФ-сінтаза, нейраглабін, імунагістахімія, галаўны мозг, спіннаы мозг, субтатальная ішэмія галаўнога мозгу

Мэта работы: высветліць рэгіянальнае і клеткавае размеркаванне АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў мозгу пацукоў і іх сувязі з адчувальнасцю/устойлівасцю нейронаў да ішэміі.

Метады даследавання: гісталагічныя, імунагістахімічныя, цытафотаметрычныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навуковая навізна. Упершыню апісана тапаграфічнае размеркаванне АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў нейронах галаўнога і спіннага мозгу пацукоў, створаны адпаведныя тапаграфічныя атласы. Праведзена параўнанне колькасці АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў нейронах розных аддзелаў мозгу пацукоў.

Упершыню выканана параўнальная ацэнка ступені ішэмічнага пашкодвання нейронаў розных аддзелаў галаўнога мозгу пацукоў пры перавязцы агульных сонных артэрыяў.

Упершыню ўстаноўлены сувязі паміж зыходнай колькасцю АТФ-сінтазы і нейраглабіна і выяўленасцю ішэмічнага пашкодвання нейронаў мозгу пацукоў.

Упершыню паказаны змены колькасці АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў нейронах розных аддзелаў галаўнога мозгу пацукоў пры перавязцы агульных сонных артэрыяў рознай працягласці.

Рэкамендацыі па выкарыстанні. Інфармацыя можа выкарыстоўвацца пры правядзенні далейшых даследаванняў ролі АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў мозгу ў норме і пры паталогіі, пры даследаванні прычын неаднолькавай адчувальнасці нейронаў розных структур мозгу пацукоў да ішэмічнага ўздзеяння. Матэрыялы могуць быць выкарыстаны ў навучальным працэсе для пашырэння фундаментальных ведаў студэнтаў вышэйшых навучальных устаноў медыка-біялагічнага профілю аб заканамернасцях размеркавання бялкоў АТФ-сінтазы і нейраглабіну ў структурах мозгу пацукоў у норме і пры цэрэбральнай ішэміі, для паглыблення ведаў аб адчувальнасці розных структур мозгу пацукоў да ішэмічнага ўздзеяння.

Галіна выкарыстання: гісталогія, цыталогія, клеткавая біялогія, нейрахімія, нармальнае анатомія і фізіялогія, паталагічная анатомія і фізіялогія, неўралогія.

РЕЗЮМЕ

Узлова Елизавета Валентиновна

Региональное распределение АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах мозга крысы, связи с их ишемическим повреждением

Ключевые слова: АТФ-синтаза, нейроглобин, иммуногистохимия, головной мозг, спинной мозг, субтотальная ишемия головного мозга

Цель работы: выяснить региональное и клеточное распределение АТФ-синтазы и нейроглобина в мозге крысы и их связи с чувствительностью/устойчивостью нейронов к ишемии.

Методы исследования: гистологические, иммуногистохимические, цитофотометрические, статистические.

Полученные результаты и их научная новизна. Впервые описано топографическое распределение АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах головного и спинного мозга крысы, созданы соответствующие топографические атласы. Проведено сравнение содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов мозга крысы.

Впервые выполнена сравнительная оценка степени ишемического повреждения нейронов разных отделов головного мозга крысы при перевязке общих сонных артерий.

Впервые установлены связи между исходным содержанием АТФ-синтазы и нейроглобина и выраженностью ишемического повреждения нейронов мозга крысы.

Впервые показаны изменения содержания АТФ-синтазы и нейроглобина в нейронах разных отделов головного мозга крысы при перевязке общих сонных артерий различной продолжительности.

Рекомендации по использованию. Данные могут использоваться при проведении дальнейших исследований роли АТФ-синтазы и нейроглобина в мозге в норме и при патологии, при исследовании причин неодинаковой чувствительности нейронов различных структур мозга крысы к ишемическому воздействию. Материалы могут быть использованы в учебном процессе для расширения фундаментальных знаний студентов высших учебных заведений медико-биологического профиля о закономерностях распределения белков АТФ-синтазы и нейроглобина в структурах мозга крысы в норме и при церебральной ишемии, для углубления знаний о чувствительности различных структур мозга крысы к ишемическому воздействию.

Область применения: гистология, цитология, клеточная биология, нейрохимия, нормальная анатомия и физиология, патологическая анатомия и физиология, неврология.

SUMMARY

Uzlova Lizaveta Valiantsinavna

Regional distribution of ATP synthase and neuroglobin in rat brain neurons, associations with their ischemia injury

Key words: ATP synthase, neuroglobin, immunohistochemistry, brain, spinal cord, subtotal cerebral ischemia

Objective of the study: to find out the regional and cellular distribution of ATP synthase and neuroglobin in the rat brain and their relationship with the sensitivity/resistance of neurons to ischemia.

Research methods: histological, immunohistochemical, cytophotometrical, statistical.

Obtained results and their novelty. For the first time, the topographic distribution of ATP synthase and neuroglobin in neurons of the rat brain and spinal cord was described and corresponding topographic atlases were created. Contents of ATP synthase and neuroglobin in neurons of different parts of the rat brain were compared.

For the first time, a comparative assessment of the degree of ischemic damage to neurons in different parts of the rat brain was performed during ligation of the common carotid arteries.

For the first time, links were established between the initial content of ATP synthase and neuroglobin and the severity of ischemic damage to the rat brain neurons.

For the first time, changes in the content of ATP synthase and neuroglobin in neurons of different parts of the rat brain were shown during ligation of the common carotid arteries of various durations.

Recommendations on application. Data can be used in further studies of the role of ATP synthase and neuroglobin in the brain in normal and pathological conditions, in the study of the reasons of unequal sensitivity of neurons in various structures of the rat brain to ischemic effects. Materials can be used in the educational process to expand the fundamental knowledge of students of higher educational institutions of medical and biological profile about the patterns of distribution of ATP synthase and neuroglobin proteins in the rat brain structures in normal conditions and with cerebral ischemia to deepen knowledge about the sensitivity of various rat brain structures to ischemic impact.

Field of application: histology, cytology, cell biology, neurochemistry, normal anatomy and physiology, pathological anatomy and physiology, neurology.

Подписано в печать 30.08.23. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Хероx office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,47. Тираж 60 экз. Заказ 476.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.