

ВЛИЯНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ БЛИЖНЕГО ИНФРАКРАСНОГО ДИАПАЗОНА НА ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У КРЫС

ГБУЗ ЦОСМП Челябинский государственный институт лазерной хирургии, г. Челябинск, Российская Федерация

Резюме. Оценена динамика морфологических изменений в очаге экспериментальной ишемии головного мозга у крыс под воздействием рекомбинантного эритропоэтина и лазерного излучения. Показано, что сочетанное воздействие данного лекарственного препарата с физическим фактором увеличивает на ранних сроках опытов толерантность нейронов к гипоксическому повреждению, значительно уменьшает площадь инфаркта, усиливает пролиферацию эндотелиоцитов с развитием нового сосудистого русла. Это сопровождается более ранним регрессом неврологических расстройств, улучшением поведенческих реакций у подопытных животных. На основе проведенного эксперимента сделаны выводы, что:

1. Воздействие рекомбинантного ЭП в сочетании с лазерным излучением значительно уменьшает площадь очага инфаркта, усиливает пролиферацию эндотелиоцитов и неангиогенез на ранних сроках опытов.

2. Эти структурные изменения сопровождаются более ранним регрессом неврологических расстройств и улучшением поведенческих реакций у экспериментальных животных.

Ключевые слова: головной мозг; ишемия; рекомбинантный эритропоэтин; лазерное излучение

Заболеваемость инсультом составляет 2,5–3,0 случая на 1000 населения в год, а частота инсультов в популяции у лиц старше 50–55 лет увеличивается в 1,8–2,0 раза в каждом последующем десятилетии жизни. В Российской Федерации инсульт ежегодно развивается более чем у 450 тыс. человек, из них примерно 35% больных умирают в остром периоде заболевания. До 80% от общего числа острых нарушений мозгового кровообращения представляют больные с ишемическим инсультом. Инвалидизация после перенесенного инсульта составляет 3,2 на 10000 населения России[1].

Исходя из вышеизложенного проблема лечения ишемического инсульта является чрезвычайно актуальной. В частности, в последнее время установлены нейропротекторные свойства эритропоэтина (ЭП), связанные с антиапоптотическим и антигипоксическим действиями. Показано, что плейотропные эффекты ЭП реализуются за счет наличия специфических рецепторов на различных клетках, в том числе на нейронах[2, 3]. В свою очередь, показано, что воздействие лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона, глубоко проникающего в ткани, способствует усилению микроциркуляции, повышению функциональной активности эндотелиоцитов, что приводит к активации неангиогенеза[4]. Таким образом, появилась возможность использовать эритропоэтин в виде монотерапии или в сочетании с другими методами для лечения церебрального ишемического инсульта.

Цель исследования

Разработать способ лечения экспериментальной ишемии коры головного мозга (ГМ) на основе анализа поведенческих и сосудистых реакций, патоморфологических изменений в тканях мозга у крыс после введения рекомбинантного ЭП и воздействия лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона.

Материал и методы

Нами проведен эксперимент на 130 беспородных половозрелых крысах обоего пола массой 220–250 г. Животные содержались в условиях вивария, регламентируемых приказом МЗ СССР №1179 от 10.10.1983 г.

Опыты проводили в соответствии с приказами МЗ СССР №755 от 12.09.77. и №701 от 27.07.1978 г. об обеспечении принципов гуманного отношения к животным. Все оперативные вмешательства

проводились в экспериментальной операционной с соблюдением правил асептики и антисептики, под общей анестезией путем внутримышечной инъекции препаратом «Золетил» (20 мг/кг веса животного). Выведение животных из эксперимента осуществлялось путем внутрисердечного введения 3 мл 7,5% раствора хлористого калия.

Все животные были разделены на 5 серий опытов.

1-я серия эксперимента (группа сравнения)

На 30 крысах моделировали ишемию коры головного мозга по методике, предложенной Г.И. Мчедлишвили [5]. После наступления стадии наркоза волосяной покров в области операции сбрасывали до гладкой кожи, обрабатывали 70% этиловым спиртом. Производили разрез мягких тканей головы в проекции сагиттального шва в промежутке между лобно-теменным и теменно-затылочным швами длиной до 1,5–2 см. Мягкие ткани разводили и фиксировали ранорасширителем. Кость скелетировали. Высокооборотным бором в левой теменной области наносили трепанационное отверстие до 3 мм в диаметре до твердой мозговой оболочки, его расширяли до 7 мм в диаметре зажимом типа «москит». Твердую мозговую оболочку вскрывали крестообразно.

С помощью электродов, изготовленных из тонких игл для инъекций, под бинокулярной лупой (х3,5; «ЛОМО») производили диатермокоагуляцию пиаальных артерий поверхности коры головного мозга по краям трепанационного отверстия.

Животных выводили из опыта на 7, 14, 30 сутки после моделирования ишемии коры головного мозга. Исследовано по 10 крыс соответственно.

2-я серия эксперимента

На 30 животных моделировали ишемию коры головного мозга по методике, описанной выше (первая серия эксперимента). Через 3 часа после операции каждому животному вводили внутривенно 1000 МЕ рекомбинантного эритропоэтина («Эпокрин 2000МЕ») из расчета 5000 МЕ на 1 кг веса животного по международному протоколу. Затем введение препарата повторяли через 24 и 48 часов по 1000 МЕ после создания ишемии головного мозга. Выведение животных из опыта осуществляли на 7, 14, 30 сутки после моделирования ишемии. На каждом сроке наблюдения исследовано 10 крыс.

3-я серия эксперимента

На 30 животных с моделью ишемии коры головного мозга через 2 часа после операции проводили дистанционное (2–3 см от ее поверхности) накожное облучение области ишемического очага в непрерывном режиме диодным лазером ИРЭ-ПОЛЮС с длиной волны 970 нм, через моноволоконный световод 0,6 мм, мощностью 1Вт, экспозиция 2 минуты. Остальных животных выводили из опыта на 7, 14 30 сутки после моделирования ишемии. На каждом сроке наблюдения исследовано 10 крыс.

4-я серия эксперимента

На 30 животных с моделью ишемии коры головного мозга через 2 часа после операции проводили дистанционное накожное облучение диодным лазером. Затем через 3 часа вводили внутривенно трехкратно рекомбинантный эритропоэтин в соответствии с международным протоколом (вторая серия эксперимента). Выведение животных из опыта проводили на 7, 14, 30 сутки после моделирования ишемии. На каждом сроке наблюдения исследовано 10 крыс.

5-я серия эксперимента (контроль)

У 10 животных проводили оперативное вмешательство, как и на крысах 1-й серии опыта (модель ишемии коры головного мозга), но без диатермокоагуляции пиаальных артерий. В ходе эксперимента проводили исследование поведения животных в актографе «открытого поля» и показателя микроциркуляции в зоне коры головного мозга левой теменной области. Результаты, полученные

на 7, 14 и 30 сутки опытов, сравнивали с таковыми у животных остальных серий экспериментов.

Поведенческие тесты

Поведение животных исследовали в актографе «открытого поля» (Волчегорский И.А. и др.) [6] через 1–3 часа, на 7, 14 и 30 сутки опытов. Актограф представляет собой квадратный манеж, дно которого разбито на 16 квадратов. В центре каждого квадрата имеется отверстие диаметром 3,8 см. Время наблюдения составляло 10 минут. При этом количество переходов животных по 16 квадратам рассматривалось как мера локомоции (горизонтальной активности), число подъемов на задние лапы являлось критерием ориентировочной реакции (вертикальной активности), количество выглядываний через отверстие отражало исследовательское поведение, а число фекальных болосов свидетельствовало о вегетативных последствиях эмоционального стресса, вызванного помещением животного в незнакомую обстановку. В свою очередь, количество актов груминга (самовывлизывания, почесывания) отражало поведенческую реакцию животных.

Методика оценки микроциркуляции в интактных и ишемизированных тканях коры головного мозга с помощью лазерной доплеровской флуориметрии

Оценка показателя микроциркуляции у животных производилась через 1–3 часа, на 7, 14 и 30 сутки опытов с использованием прибора ЛАКК-01 (Россия) на основе инфракрасного лазера с помощью трехканального светового зонда, смонтированного из кварцевых моноволоконных световодов. Показатели у анестезированных Золетилом животных снимались после разреза кожи в левой теменной области через трепанационное отверстие, с помощью датчика, приложенного к мягкой мозговой оболочке (до забора материала для морфологического исследования). Время записи ЛДФ-граммы составляло 60 секунд.

Определялся показатель микроциркуляции (ПМ), который является функцией от усредненной скорости эритроцитов (V_{cp}) и концентрации эритроцитов в зондируемом объеме тканей ($N_{эр.}$), зависящей от показателя гематокрита и количества функционирующих сосудов: $ПМ = N_{эр} + V_{cp}$. Величина показателя микроциркуляции измерялась в относительных перфузионных единицах (пф. ед.). Математическая и статистическая обработка показателей прибора осуществлялась с помощью комплекта программ ООО «Лазма» (Россия).

Морфологические методы исследования

После выведения животных из эксперимента головной мозг извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Серийные срезы головного мозга окрашивали гематоксилином и эозином по методу Бильшовского для выявления миелиновых волокон, по методу Ниссля для определения тигроидного вещества Ниссля, глиальных клеток. Подсчитывали на условной единице площади среза количество нейронов (нормальных, с хроматоллизом, клеток-теней), глиоцитов и мелких кровеносных сосудов, а также площадь ишемического очага (в $мкм^2$) при увеличении $\times 400$ и $\times 200$ соответственно.

Микроскопическое изучение гистологических срезов проводили на микроскопе Leica DMRXA (Германия). Морфометрические исследования проводились с помощью компьютерной программы анализа изображений «ImageScore M» (Россия), Москва, производящей цифровые преобразования видеоизображения гистологических препаратов и компьютеризированный подсчет параметров выбранных объектов.

Методы статистической обработки результатов исследования

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью лицензионного пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc, США). Применялись методы вариационной статистики: определение среднего арифметического, среднего квадратичного отклонения, стандартной ошибки среднего арифметического. Статистическая значимость различий сравниваемых признаков в группах проводилась с помощью непараметрического U-теста Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$, что соответствует 95% вероятности безошибочного прогноза.

Результаты исследования

Результаты проведенного эксперимента по моделированию ишемии коры головного мозга у крыс показали, что в послеоперационном периоде отмечались правосторонний гемипарез-гемиплегия и атаксия, сопровождавшиеся гиподинамией, заторможенностью и отказом животных от пищи и воды. В это же время определялось существенное снижение показателей поведенческих тестов (горизонтальной и вертикальной активности, вегетативных проявлений эмоционального стресса, исследовательского поведения). Такая картина наблюдалась вплоть до 30-х суток опыта; определялось медленное восстановление поведенческих реакций, но оно было неполным (табл. 1). Об это свидетельствовало также значительное снижение показателя микроциркуляции в области ишемического очага головного мозга на всех сроках наблюдения по сравнению с животными контрольной группы (табл. 2)

Следует отметить, что гистологическое исследование препаратов головного мозга животных через 2 часа после моделирования ишемии показало, что дистрофические и некротические изменения нервной ткани захватывали область коры, включая сенсомоторную зону и стриатум.

Наряду с этим, при морфометрическом исследовании препаратов головного мозга показано, что содержание нормальных нейронов на 7-е сутки опыта достоверно уменьшилось, а число нейронов с хроматоллизом, клеток-теней и площадь ишемического очага увеличились, начиная с 7-х суток и последующие сроки наблюдения. В то же время отмечалось увеличение содержания глиальных клеток и кровеносных сосудов (рис. 1).

Таблица 1
Динамика изменений поведения животных различных серий опытов в «открытом поле» ($M \pm m$)

Виды поведения	Серия опыта	Сроки наблюдения (сутки)			
		3-и	7-е	14-е	30-е
Локомоция (смена квадратов)	1-я	26,8 ± 1,5 ****	24,1 ± 1,2 ****	16,2 ± 0,4 ****	20,3 ± 1,7 ****
	2-я	36,7 ± 1,1 *****	34,2 ± 1,2*	21,4 ± 0,8 *****	30,8 ± 1,9 *****
	3-я	32,3 ± 1,2 *****	28,1 ± 1,2 *****	20,9 ± 0,7 *****	29,7 ± 1,1 *****
	4-я	46,8 ± 2,1 *****	34,9 ± 2,2* *****	21,8 ± 0,9 *****	31,8 ± 1,3 *****
	5-я	47,8 ± 3,2	35,2 ± 2,2 ****	22,3 ± 1,1 ****	31,4 ± 2,1 ****
Ориентировочная реакция (вертикальная стойка)	1-я	7,7 ± 0,5 ****	6,9 ± 0,6 ****	4,1 ± 0,3 ****	5,3 ± 0,7 ****
	2-я	10,8 ± 0,6 *****	9,9 ± 0,4 *	7,1 ± 0,3 *****	8,3 ± 0,6 *
	3-я	8,9 ± 0,4 ****	8,1 ± 0,3 *****	6,9 ± 0,4*	7,4 ± 0,4 *
	4-я	14,9 ± 1,1 *****	10,7 ± 0,6 *****	7,1 ± 0,5 *****	8,3 ± 0,6 *
	5-я	15,4 ± 1,2	10,9 ± 0,5 ****	7,2 ± 0,4 ****	8,5 ± 0,5
Исследовательское поведение (выглядывание через отверстия)	1-я	8,1 ± 0,8 ****	4,3 ± 0,7 ****	3,2 ± 0,3 ****	4,1 ± 0,4 ****
	2-я	12,1 ± 0,9 *****	8,9 ± 0,6 *****	6,9 ± 0,4 *****	7,9 ± 0,6 *
	3-я	10,1 ± 0,8 ****	6,3 ± 0,3 *****	6,6 ± 0,3 *	7,4 ± 0,5 *
	4-я	16,9 ± 0,9 *	9,7 ± 0,6 *****	7,1 ± 0,5 *****	8,1 ± 0,4 *
	5-я	17,7 ± 1,4	9,9 ± 0,8 ****	7,2 ± 0,4 ****	8,3 ± 0,5

У всех животных с ишемией коры головного мозга, леченных рекомбинантным эритропоэтином, наблюдалась ранняя активизация поведения (табл. 1). Так, уже через 2–3 часа после введения препарата отсутствовали признаки неврологических расстройств, животные активно обращались к пище и воде. В то же время исследование динамики показателя микроциркуляции в об-

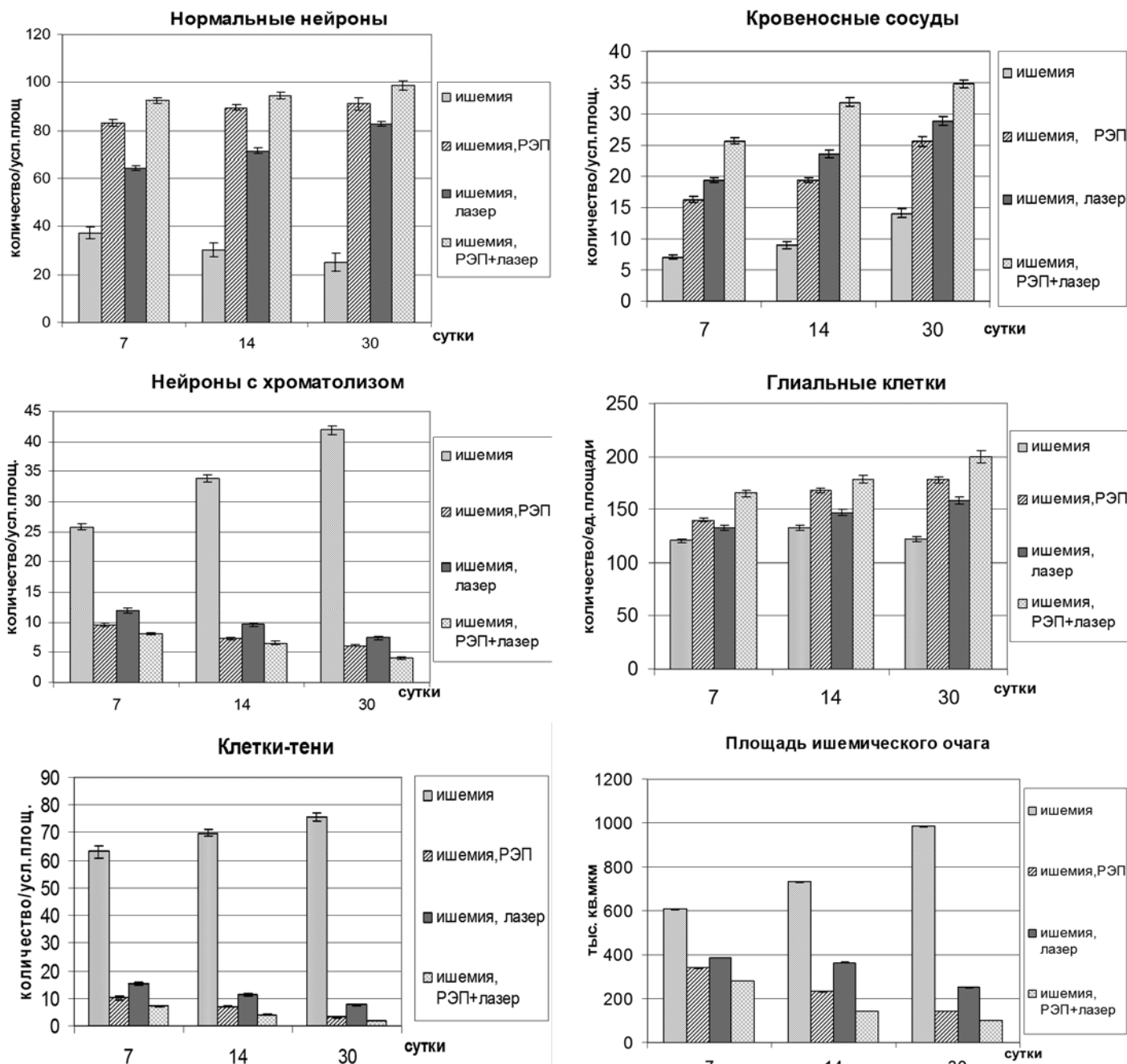


Рисунок 1. Динамика морфометрических изменений в ишемизированных тканях головного мозга крыс различных серий опытов.

ласти очага ишемии головного мозга крыс показало его достоверное увеличение через 2–3 часа после лечения по сравнению с контролем и животными с нелеченной ишемией коры головного мозга (группа сравнения, табл. 2). Результаты морфометрического исследования препаратов головного мозга показали, что число нормальных нейронов, глиальных клеток и кровеносных сосудов достоверно увеличивалось, а содержание нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь ишемического очага уменьшались, начиная с 7-х суток в последующие сроки наблюдения. Кроме того, число нормальных нейронов, глиальных клеток и кровеносных сосудов было значительно больше, а количество нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь ишемического очага – меньше на всех сроках опытов по сравнению с нелеченной ишемией головного мозга (группа сравнения, рис. 1).

Таблица 2
Динамика показателя микроциркуляции (ПМ) в тканях ГМ животных различных серий опытов ($M \pm m$; пф. ед)

Серия опыта	Сроки наблюдения (сутки)			
	3-и	7-е	14-е	30-е
1-я	$1,9 \pm 0,5^*$	$2,8 \pm 0,6^*$	$3,1 \pm 0,7^*$	$3,8 \pm 0,3^*$
2-я	$7,2 \pm 0,4^{***}$	$6,3 \pm 0,5^{**}$	$5,7 \pm 0,6^{**}$	$5,6 \pm 0,4^{**}$
3-я	$4,1 \pm 0,5^{****}$	$4,5 \pm 0,4^{****}$	$4,8 \pm 0,5^{**}$	$5,1 \pm 0,5^{**}$
4-я	$8,5 \pm 0,3^{****}$	$7,8 \pm 0,5^{****}$	$6,8 \pm 0,4^{****}$	$6,1 \pm 0,4^{**}$
5-я	$5,8 \pm 0,3$			

Примечание: 1-я серия опыта — животные с моделью ишемии коры ГМ (группа сравнения); 2-я серия опыта- животные с ишемией коры ГМ, леченные РЭП; 3-я серия опыта- животные с ишемией коры ГМ, леченные лазерным излучением; 4-я серия опыта- животные с ишемией коры ГМ, леченные лазерным излучением в сочетании с РЭП; 5-я серия опыта- контроль * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,05$ по сравнению с 1-й серией опыта; *** — $p < 0,05$ по сравнению со 2-й серией опыта; **** — $p < 0,05$ по сравнению с 3-й серией опыта.

В эксперименте на 5 животных нами было установлено, что применение непрерывного инфракрасного излучения диодного лазера с длиной волны 970 нм, мощностью 1Вт, с экспозицией 2 мин в дистанционном режиме работы являлось оптимальным по клиническим данным (увеличение показателей поведенческих тестов, повышение показателя микроциркуляции с 7-х суток наблюдения в сравнении с животными группы сравнения) и результатами морфометрического исследования (увеличение числа мелких кровеносных сосудов, уменьшение количества нейронов с необратимыми изменениями с 7-х суток по сравнению с животными группы сравнения) для проведения облучения ишемизированных тканей головного мозга.

У животных с ишемией коры головного мозга, коррегированной лазерным воздействием, показатели поведенческих тестов (табл.1) и показатель микроциркуляции (табл.2) восстанавливались до значения животных контрольной группы, начиная с 7-х суток опытов. результаты количественного исследования гистологических препаратов головного мозга показали, что число нормальных нейронов, глиальных клеток и кровеносных сосудов достоверно увеличивалось, а количество нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь ишемического очага — уменьшались, начиная с 7-х суток, а также по отношению к нелеченной ишемии коры головного мозга на всех сроках опытов (рис. 1).

Кроме того, содержание нормальных нейронов и глиальных клеток было значительно меньше, а число нейронов с хроматолизом, клеток-теней, площадь ишемического очага и кровеносных сосудов — больше по отношению к группе животных, леченных рекомбинантным эритропозтином (рис. 1).

Клиническая картина у животных с ишемией коры головного мозга, леченной рекомбинантным эритропозтином в комбинации с лазерным облучением, уже через 1—2 часа после однократного введения препарата и лазерного воздействия характеризовалась регрессом неврологических расстройств и восстановлением поведенческих реакций (табл. 1), увеличением показателя микроциркуляции на 3-и сутки опытов по сравнению с контролем (табл. 2). Результаты количественного анализа гистологических препаратов головного мозга показали, что число нормальных нейронов, глиальных клеток и кровеносных сосудов увеличивалось с 7-х до 30-х суток, а содержание нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь ишемического очага — уменьшились в те же сроки опытов. Кроме того, число нормальных нейронов, глиальных клеток и кровеносных сосудов было значительно больше, а содержание нейронов с хроматолизом, клеток-теней и площадь ишемического очага — меньше на всех сроках наблюдения по сравнению с 1-й серией (нелеченная ишемия), 2-й серией (ишемия, леченная рекомбинантным эритропозтином) и 3-й серией (ишемия, коррегированная лазерным облучением) экспериментов (рис. 1).

Выводы

1. Модель ишемии коры головного мозга, вызванная у крыс диатермокоагуляцией пияльных артерий, характеризовалась существенным увеличением площади инфаркта в области коры, включая сенсомоторную зону и стриатум; вызывала стойкие нарушения неврологических функций и значительное снижение показателя микроциркуляции и показателей поведенческих тестов при оценке их в актографе «открытого поля».

2. На модели ишемии коры головного мозга, вызванной у крыс диатермокоагуляцией пияльных артерий, выявлено нейропротекторное и ангиогенное действие рекомбинантного эритропозтина, проявившееся в достоверном увеличении показателя микроциркуляции и числа мелких кровеносных сосудов в зоне ишемии, снижении площади инфаркта, а также в достаточно полном восстановлении поведенческих реакций у животных через 2–3 часа после однократного введения данного препарата.

3. Применение лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона с целью коррекции ишемических нарушений в коре головного мозга, вызванных у крыс диатермокоагуляцией пияльных артерий, способствует в динамике наблюдения значительному увеличению показателя микроциркуляции и числа мелких кровеносных сосудов в зоне ишемии, достаточно полному восстановлению неврологических функций на 7-е сутки после облучения. Это свидетельствует о глубокоом проникновении данного вида из-

лучения, при выбранных параметрах, в биологические ткани и об активации им процесса ангиогенеза.

4. Применение лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона в сочетании с введением рекомбинантного эритропозтина для лечения экспериментальной ишемии коры головного мозга у крыс, в сравнении с другими изученными нами методами терапии, способствует в динамике опытов более значительному увеличению показателя микроциркуляции в зоне ишемии, уменьшению площади инфаркта, усилению пролиферации глиоцитов, эндотелиоцитов с образованием нового микроциркуляторного русла. Это сопровождается достаточно полным восстановлением неврологических функций у животных уже через 1-2 часа после однократного введения данного препарата и лазерного облучения зоны ишемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Мартынов М.Ю., Камчатнов П.П. Церебральный инсульт: проблемы и решения. // Вестник РГМУ.— 2006. — №4. — С. 28–32.
2. Siren A. L., Fratelli M., Brines M. et al. Erythropoietin prevents neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress//Proc Natl Acad Sci USA. -2001. -V. 98. -P. 4044-4049.
3. Wang L., Zhang Z., Wang Y., Zhang R., Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats//Stroke. -2004. -V. 35. -P. 1732-1737.
4. Козель А. И., Попов Г. К., Гиниатуллин Р. У., Астахова Л. В., Кузьмин А. Н., Игнатъева Е. Н., Кравченко Т. Г. Способ лечения ишемии головного мозга в эксперименте: Патент РФ на изобретение № 2495688 от 20.10.2013г.
5. Мчедlishvili Г. И. Моделирование заболеваний центральной нервной системы// Моделирование заболеваний/ Под редакцией С. В. Андреева. -М.: Медицина, 1973. -С. 79-81.
6. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. - Челябинск: Издательство ЧГПУ, 2000. -С. 25-33.

Авторская справка

Кузьмин Андрей Николаевич
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Областная клиническая больница № 3 г. Челябинска
Заведующий отделением нейрохирургии № 1
Российская Федерация, 454021, Челябинск, проспект Победы 287
ak_n@rambler.ru

Гиниатуллин Равиль Усманович

ГБУЗ ЦОСМП "Челябинский государственный институт лазерной хирургии"
доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке
Российская Федерация, 454021, Челябинск, проспект Победы 287
main@cgilh.chel.su

Козель Арнольд Израилевич

ГБУЗ ЦОСМП "Челябинский государственный институт лазерной хирургии"
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор
Российская Федерация, 454021, Челябинск, проспект Победы 287

Астахова Людмила Витальевна

ГБУЗ ЦОСМП "Челябинский государственный институт лазерной хирургии"
кандидат медицинских наук, руководитель отдела фундаментальных исследований
Российская Федерация, 454021, Челябинск, проспект Победы 287

Kuzmin A.N., Giniyatullin R.U.,

Kozel A.I., Astakhova L.V.

THE INFLUENCE OF RECOMBINANT ERYTHROPOIETIN AND LASER INFRARED RADIATION ON THE COURSE OF ISCHEMIC STROKE IN RATS

State Budgetary Institution Health Center provide specialized medical care «Chelyabinsk State Institute of Laser Surgery» by the Ministry of Health of Chelyabinsk region, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The dynamics of morphological changes in the focus of the experimental cerebral ischemia in rats exposed to recombinant erythropoietin and laser radiation is assessed. It is shown that the combined effect of the drug with the physical factor increases in the early stages of practicing tolerance to hypoxic damage to neurons, significantly reduces infarct area, enhances the proliferation of endothelial cells to the development of the new vascular bed. This is followed by an earlier regression of neurological disorders, behavioral improvement in experimental animals. On the basis of experimental findings it is possible to conclude:

1. The effect of Recombinant EPO in combination with laser radiation significantly reduces infarct area, enhances the proliferation of endothelial cells and angiogenesis in the early stages of trials.

2. These structural changes are accompanied by earlier regression of neurological disorders and behavioral improvement in experimental models of animals.

Keywords: brain; ischemia; Recombinant erythropoietin; laser radiation

REFERENCES

1. Gusev E. I., Skvortsova V.I., Martynov M. Y., Kamchatnov P.R. Cerebral stroke: Problems and Solutions. Herald RGMU.- 2006. - № 4. - P. 28- 32.

2. Siren A. L., Fratelli M., Brines M. et. al. Erythropoietin prevents

neuronal apoptosis after cerebral ischemia and metabolic stress. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. -2001. -V. 98. -P. 4044-4049.

3. Wang L., Zhang Z., Wang Y., Zhang R., Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. Stroke. -2004. -V. 35. -P. 1732-1737.

4. Kozel A.I., Popov G. K., Giniyatullin R. U. , Astakhova L. V., Kuzmin A. N., Ignatieva E. N., Kravchenko T.G. Method for treating of cerebral ischemia in experiment : RF Patent № 2495688 from 20.10.2013.

5. Mchedlishvili G. I. Modeling diseases of the central nervous system . Modeling diseases. Edited by S. V. Andreev. -M.: Medicine , 1973 . -P. 79-81.

6. Volchegorsky I. A., Dolgushin I. I., Kolesnikov O. L., Tseilikman V.E., Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions. – Chelyabinsk: CSPU Publisher, 2000. –P. 25- 33.

Authors

Kuzmin Andrey N.

State Budget Institution of Health Regional Clinical Hospital №3

Chairman of the Department of Neurosurgery

Russian Federation, Chelyabinsk, Prospekt Pobedy 287, 454021

ak_n@rambler.ru

Giniyatullin Ravil U.

State Budget Institution of Health Center to provide specialized medical care,

«Chelyabinsk State Institute of Laser Surgery»

Ph.D., M.Sc., Professor, Vice Director

Chelyabinsk, Russian Federation, Prospekt Pobedy 287, 454021

main@cgiln.chel.su

Kozel Arnold I.

State Budget Institution of Health Center to provide specialized medical care,

«Chelyabinsk State Institute of Laser Surgery»

Ph.D., M.Sc., Professor, Director

Chelyabinsk, Russian Federation, Prospekt Pobedy 287, 454021

Astakhova Lyudmila V.

State Budget Institution of Health Center to provide specialized medical care,

«Chelyabinsk State Institute of Laser Surgery»

Ph.D., Head of the Department of the Scientific Research

Chelyabinsk, Russian Federation, Prospekt Pobedy 287, 454021

УДК 576.524

Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Самодуров А.С., Казанцева Н.В.

РОЛЬ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ E- И P-КАДГЕРИНОВ, А ТАКЖЕ B- И P120-КАТЕНИНОВ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий;

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет,

г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. Изучены особенности экспрессии молекул клеточной адгезии E- и P-кадгеринов и ассоциированных с ними β - и p120-катенинов в эпителиальных клетках молочной железы. В исследуемую группу вошли 30 случаев интактной ткани молочной железы, взятых от пациенток с диагнозами, исключающими рак молочной железы. Экспрессию кадгеринов и ассоциированных с ними молекул на клетках молочной железы определяли при помощи иммуногистохимического метода с использованием специфических антител. В большинстве случаев (97%) обнаружена экспрессия E-кадгерина в клетках однослойного столбчатого эпителия. Экспрессия P-кадгерина обнаружена в миоэпителиальных клетках в 100% случаев. Ассоциированные с E- и P-кадгеринами β - и p120-катенины экспрессировались в обоих типах эпителиальных и миоэпителиальных клеток всех случаев. Экспрессия эпителиальных кадгеринов, а также β - и p120-катенинов необходима для поддержания межклеточной адгезии эпителиальных клеток, а также для реализации сигнальных путей, обеспечивающих регуляцию дифференцировки и пролиферации клеток.

Ключевые слова: E-кадгерин, P-кадгерин, катенины, клеточная адгезия

Введение

Молочные железы являются видоизмененными потовыми железами. Они формируются в процессе эмбриогенеза из эктодермы путем впячивания эпидермиса. Протоки молочной железы представлены клетками однослойного кубического или столбчатого эпителия, образующими между собой адгезионные контакты при помощи молекул E-кадгерина — белка межклеточной адгезии, обеспечивающего гомофильную связь между эпителиоцитами. Под однослойным эпителием залегает слой миоэпителиальных клеток, который образуется путём дифференцировки сар-клеток и играет важную роль при лактации, а также необходим для поддержания фенотипа протоков. Для миоэпителиальных клеток характерна экспрессия P-кадгерина, обеспечивающего адгезию между миоэпителиоцитами. Кроме того, эпителиальные E- и P-кадгерин играют важную роль в регуляции дифференцировки и пролиферации эпителиальных клеток за счет образования комплексов с молекулами β - и p120-катенинов (т.н. кадгерин-катениновые комплексы) и их участия во внутриклеточных регуляторных механизмах [1–4].

Нарушение экспрессии эпителиальных кадгеринов приводит к