

УДК 616-092-9-085-357-085-849-19

Р.У. Гиниатуллин¹, М.В. Осиков¹, А.М. Володченко²

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И НЕОАНГИОГЕНЕЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ СПИННОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск, Российская Федерация;

²ГБУЗ Областная клиническая больница №3, г. Челябинск, Российская Федерация

Резюме. *Цель работы* — провести морфометрическую оценку показателей экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и неоангиогенеза и с патогенетических позиций обосновать комбинированное применение эритропоэтина (ЭПО) и лазерного излучения (ЛИ) при экспериментальной ишемии спинного мозга (ЭИСМ). *Материалы и методы исследования.* Работа выполнена на 300 белых нелинейных крысах. ЭИСМ у крыс создавали по методике, предложенной Г.З. Суфиановой, путем тотальной интравазальной окклюзии брюшного отдела аорты и ее ветвей. В работе использовались гистологические, иммуногистохимические, морфометрические, статистические методы. *Результаты исследования.* Полученные результаты позволяют говорить о синергизме нейропротекторного действия системного применения ЭПО и локального воздействия ЛИ при ЭИСМ в отношении исследованных морфометрических показателей в очаге ишемического повреждения, включая уменьшение площади отека, количественного состава мелких кровеносных сосудов, экспрессии VEGF в зависимости от сроков проведенных экспериментов. *Выводы.* 1. При ЭИСМ на 3, 7, 14, 30 сутки в мозговой ткани мелких кровеносных сосудов, экспрессия VEGF в эндотелиоцитах, наблюдается отек тканей. 2. Применение эритропоэтина в суммарной дозе 15000 МЕ/кг при ЭИСМ приводит к увеличению в спинном мозге количества кровеносных сосудов, уменьшению площади отека. 3. Локальное однократное воздействие ЛИ при ЭИСМ приводит в зоне ишемии к увеличению количества мелких кровеносных сосудов, прогрессивному возрастанию экспрессии VEGF в эндотелиоцитах, снижению площади отека. 4. Комбинированное применение ЭПО и ЛИ при ЭИСМ приводит на 3, 7, 14 и 30 сутки к увеличению экспрессии VEGF в эндотелиоцитах, количества мелких кровеносных сосудов, уменьшению площади отека.

Ключевые слова: спинальная ишемия, фактор роста эндотелия сосудов, эритропоэтин, лазерное излучение

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Гиниатуллин Равиль Усманович

prkom@chelsma.ru

Дата поступления 20.09.2021г.

Образец цитирования:

Гиниатуллин Р.У., Осиков М.В., Володченко А.М. Количественная оценка экспрессии фактора роста эндотелия сосудов и неоангиогенеза при экспериментальной ишемии спинного мозга в условиях комбинированного применения эритропоэтина и лазерного излучения. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2021, Том 18, №4, с. 253–261, DOI: 10.22138/2500-0918-2021-18-4-253-261

Введение

Спинальный инсульт является актуальной медико-социальной проблемой: заболеваемость составляет около 12 случаев на 100000 населения, частота встречаемости — около 1% от всех инсультов, а инвалидизация до 30% (Qureshi A.I. et al., 2017 [1]). Данная патология чаще всего является результатом ишемии, реже — кровоизлияния или их сочетания, приводит к полиморфной клинической симптоматике в зависимости от распространенности. Патогенез болезни является многофакторным, зависит от уровня и продолжительности редукции кровотока, включает механизмы глутамат-кальциевого каскада, дисбаланс системы про- и антиоксидантов, формирование оксидативного стресса в нервной ткани, ограничение факторов ишемического прекодиционирования и толерантности к ишемии, синтез провоспалительных цитокинов и других медиаторов; участие микро-РНК за счет регуляции апоптоза, синтеза нейропротекторных факторов, ферментов; постишемическая гибель нейронов спинного мозга опосредована некрозом, апоптозом, аутофагией [2, 3].

Терапевтические подходы при ишемическом спинальном инсульте направлены на улучшение перфузии ткани мозга (тромболизис, антикоагулянты, антиагреганты, гемодилюция), первичную и вторичную нейропротекцию в максимально сжатый от начала ишемии временной интервал — терапевтическое окно, позволяющие восстановить структуру и функцию клеток в области пенумбры [4]. Несмотря на широкий арсенал лекарственных и нефармакологических подходов, их эффективность далека от желаемой и диктует необходимость поиска и обоснование применения новых терапевтических методов. В этом отношении интерес представляют нейропротекторы с антиоксидантным эффектом. Среди них особый интерес представляет эритропоэтин (ЭПО) — кислый гликопротеин, синтезируемый преимущественно в почках, но также и в нервной ткани с плеiotропными эффектами, реализуемыми в ЦНС при взаимодействии ЭПО с тремя типами рецепторов на нейронах, глиоцитах, астроцитах, эндотелиоцитах церебральных сосудов, протеинкиназы С и других, что приводит к антиапоптогенному, антиоксидантному, противовоспалительному эффектам, активации неоангиогенеза, нейрогенеза и другим эффектам [5, 6].

Нейропротекторный эффект лазерного излучения (ЛИ) ближнего инфракрасного диапазона реализуется за счет влияния на клеточные мембраны, активность генома и внутриклеточных ферментов биосинтеза веществ и редокс-статуса, что приводит к ускорению регенерации в нервной ткани, неоангиогенезу, в том числе в связи с активацией синтеза фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [7].

Цель исследования — провести морфометрическую оценку показателей экспрессии VEGF и неоангиогенеза и с патогенетических позиций обосновать комбинированное применение ЭПО и ЛИ при ЭИСМ.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 300 белых нелинейных половозрелых крысах обоего пола массой 220-250 г. в экспериментальной операционной с соблюдением правил асептики и антисептики под общей анестезией препаратом «Золетил» (Virbac «Sante Animale», Франция; 20 мг/кг) в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых для экспериментов (ETSIN 123, 18 марта 1986 г.).

ЭИСМ у крыс создавали под наркозом («Золетил-100», МНН: тилетамин гидрохлорид, золазепам гидрохлорид, Франция) по методике предложенной Г.З. Суфиановой [8], путем тотальной интравазальной окклюзии брюшного отдела аорты и ее ветвей с введением на 45 мин в обе бедренные артерии через иглу по направлению к сердцу окклюдеров — стерильных нитей из хромированного кетгута 3.0 (Ethicon, USA) и пункционным введением в левую общую сонную артерию 0,3 мл 3% раствора феракрила (ТОО ПКФ «Пуск», Иркутск) по направлению к окклюдерам. Для предотвращения критической ишемии органов брюшной полости из-за облитерации висцеральных ветвей брюшного отдела аорты, данная методика нами была модифицирована: длина окклюдеров была уменьшена на 1 см, поэтому окклюзия развивалась ниже чревного ствола, верхней брыжеечной и почечных артерий. Представленная экспериментальная модель приближена к клиническим условиям формирования тромбоза или облитерации брюшной аорты у людей, что приводит к спинальной ишемии. ЭИСМ у крыс верифицировали морфологическими методами.

Животные были случайным образом разделены на 5 групп (табл. 1): группа 1 (n=60) — ложнопериоперированные; группа 2 (n=60) — животные с ЭИСМ; группа 3 (n=60) — животные с ИСМ, которым

через 3, 24, 48 часов после индукции ЭИСМ внутрибрюшинно вводили ЭПО в составе препарата «Эпокрин» (МНН эпоэтин альфа, ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА, Россия) в разовой дозе 5000 МЕ/кг; группа 4 (n=60) — животные, которым через 2 часа после индукции ИСМ однократно воздействовали на область ишемического очага лазерным излучением с длиной волны 980 нм диодным лазером «ALTO» (Alto, Израиль) в непрерывном, дистанционном (2 см от поверхности кожных покровов), сканирующем (движение головки излучателя по спирали вдоль зоны облучения) режиме, мощность 2 Вт, экспозиция — 3 минуты; группа 5 (n=60) — животные, которым через 2 часа после индукции ЭИСМ проводили дистанционное ЛИ, как в группе 4, а через 3, 24 и 48 часов вводили ЭПО, как в группе 3. Исследования проводили на 3, 7, 14, 30 сутки после индукции ЭИСМ.

После выведения животных из эксперимента спинной мозг (СМ) извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Серийные срезы СМ окрашивали гематоксилином и эозином. Подсчитывали на микроскопе «Leica DMRXA» (Германия) на 1 мм² среза количество мелких кровеносных сосудов, измеряли площадь отека (в мкм²) при увеличении $\times 400$ и $\times 100$.

Морфометрические исследования проводили с помощью компьютерной программы анализа изображений «ImageScore M» (Россия). Оценку экспрессии VEGF в ткани СМ проводили иммуногистохимическим методом с использованием набора первичных специфических для крыс антител к VEGF (клон SP 28, тип «Rabbit», SpringBio, USA).

Таблица 1
Дизайн исследования

Группы животных	Схема введения ЭПО	Параметры ЛИ	Сутки	Кол-во крыс	Методы исследования
1. Ложно-оперированные	Препарат не вводился	ЛИ не проводилось	3, 7, 14, 30	60	Гистологические, иммуногистохимические, статистические
2. ЭИСМ	Препарат не вводился	ЛИ не проводилось		60	
3. ЭИСМ + ЭПО	5000 МЕ/кг через 3, 24, 48 часов, в/брюшинно	ЛИ не проводилось		60	
4. ЭИСМ + ЛИ	Препарат не вводился	диодный лазер «ALTO», 980 нм, 2 Вт, 3 мин, непрерывный, дистанционный, сканирующий		60	
5. ЭИСМ + ЭПО + ЛИ	5000 МЕ/кг через 3, 24, 48 часов, в/брюшинно	диодный лазер «ALTO», 980 нм, 2 Вт, 3 мин, непрерывный, дистанционный, сканирующий		60	

Статистические методы исследования

Результаты обрабатывали с использованием программ IBM SPSS Statistics 19. Показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей [Q1-Q3]. Значимость различий между группами оценивали при помощи критериев Крускалла-Уолиса, Манна-Уитни. Для выявления связи между показателями использовали коэффициент корреляции Спирмена. Отличия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

1. В ответ на повреждение тканей при ЭИСМ развивается воспаление с соответствующими атрибутами реакций, инициируемых и регулируемыми аутокоидами клеточного и гуморального происхождения. Так, на все сутки наблюдения отмечено увеличение площади отека в СМ (табл. 2). При этом количество мелких кровеносных сосудов в зоне ишемического повреждения прогрессивно от 3 к 30 суткам увеличивается, что связано с запуском компенсаторных реакций в ответ на гипоксию, прежде всего, повышение экспрессии VEGF, последний факт был зафиксирован нами на 3, 7, 14, 30 сутки опыта (табл. 3, 4).

2. При морфометрической оценке СМ после применения эритропоэтина на 7, 14 и 30 сутки уменьшалась площадь отека, а начиная с 3 суток возрастало представительство мелких кровеносных сосудов, однако экспрессия VEGF в зоне повреждения на 7, 14 и 30 сутки была значительно меньше по отношению к 4 и 5 группе опытов (табл. 2, 3, 4).

Таблица 2
Площадь отека при ЭИСМ в условиях комбинированного применения ЭПО и ЛИ (мкм², Ме |Q1-Q3|)
Table 2
The area of edema under the conditions of combined use of EPO and LR (mkm², Me |Q1-Q3|)

Группы опытов Groups of experiments	3 сутки 3 day	7 сутки 7 day	14 сутки 14 day	30 сутки 30 day
1. ЛО (n=60) FO	2,27 2,15-2,54	2,17 2,74-2,98	2,56 2,04-2,86	1,99 1,91-2,04
2. ЭИСМ (n=60) EISM	29,27* 28,71-29,81	36,14* 35,67-36,75	33,68* 32,86-35,26	34,26* 32,98-34,62
3. ЭИСМ+ЭПО(n=60) EISM+EPO	25,11* 24,76-25,55	20,54* 19,54-20,66	17,28* 16,94-17,39	12,21* 11,99-12,31
4. ЭИСМ+ЛИ (n=60) EISM+LR	27,29* [^] 26,82-27,65	25,25* [^] 24,97-25,41	20,17* [^] 19,81-20,43	16,22* [^] 16,16-16,47
5. ЭИСМ+ЭПО+ЛИ (n=60) EISM+EPO+LR	13,67* [^] 13,65-14,14	12,28* [^] 11,79-12,51	10,04* [^] 9,81-10,16	6,96* [^] 6,87-7,08

Примечание: ЛО — ложнооперированные; * — значимые (p<0,01) различия с группой 1; ** — с группой 2; — ^ с группой 3; ° — с группой 4.

Note: FO — falsely operated; * — significant (p<0.01) differences with group 1; * * — with group 2; — ^ with group 3; ° — with group 4.

Таблица 3
Количество мелких кровеносных сосудов в очаге ИКГМ в условиях комбинированного применения ЭПО и ЛИ (на усл. ед. площади, Ме |Q1-Q3|)
Table 3
The number of small blood vessels in the focus and ICGM under the conditions of combined use

Группы опытов Groups of experiments	3 сутки 3 day	7 сутки 7 day	14 сутки 14 day	30 сутки 30 day
1. ЛО (n=60) FO	38,28 37,12-39,25	36,14 35,19-38,91	38,77 36,81-39,88	39,03 38-39,91
2. ЭИСМ (n=60) EISM	4,55* 4,28-4,41	*4,35 5,86-6,54	8,18* 7,32-8,64	10,06* 9,81-10,35
3. ЭИСМ+ЭПО(n=60) EISM+EPO	7,89* ^{**} 7,86-7,93	11,89* ^{**} 11,67-11,98	15,32* ^{**} 14,23-15,46	20,13* ^{**} 19,09-20,54
4. ЭИСМ+ЛИ(n=60) EISM+LR	5,15* [^] 4,86-5,37	8,92* [^] 8,72-8,98	12,81* [^] 12,71-12,97	34,68* [^] 34,32-35,28
5. ЭИСМ+ЭПО+ЛИ (n=60) EISM+EPO+LR	16,67* [^] 16,19-17,12	24,74* [^] 24,48-25,16	34,08* [^] 33,36-34,52	34,68* [^] 34,32-35,28

Примечание: ЛО — ложнооперированные; * — значимые (p<0,01) различия с группой 1; ** — с группой 2; — ^ с группой 3; ° — с группой 4.

Note: FO — falsely operated; * — significant (p<0.01) differences with group 1; * * — with group 2; — ^ with group 3; ° — with group 4.

Показано, что экспрессия рецепторов ЭПО, а также синтез самого ЭПО в ЦНС возрастает при ишемии/гипоксии, а проникновение эндогенного или экзогенного ЭПО из крови в ЦНС происходит через гематоэнцефалический барьер путем рецептор-опосредованного трансцитоза [9]. Опосредованное нейропротекторное действие ЭПО может реализоваться за счет проангиогенного эффекта через взаимодействие с рецепторами на эндотелиоцитах, активации неоангиогенеза в зоне ишемии, где экспрессия рецепторов к ЭПО наиболее высока, а его концентрация повышается в связи с накоплением экзогенного ЭПО и активацией синтеза ЭПО глиоцитами. ЭПО может регулировать выраженность воспалительного процесса в области повреждения [10, 11, 12, 13], уменьшать площадь отека в ответ на ишемию [5, 6].

3. После применения ЛИ при ЭИСМ снижается площадь отека, увеличивается количество мелких кровеносных сосудов (табл. 2, 3). По сравнению с эффектами ЭПО в условиях применения ЛИ количество мелких кровеносных сосудов значительно возросло. Последний факт закономерно связан с увеличением экспрессии VEGF в области повреждения СМ (табл. 4). Считают, что VEGF является важнейшим медиатором восстановления СМ после повреждения [14].

По данным большинства исследователей, механизм действия ЛИ в области ишемического повреж-

дения тканей, прежде всего, обусловлен индукцией неоангиогенеза в связи с повышением экспрессии и эффектов VEGF, восстановлением микроциркуляции [7]. В условиях применения ЛИ нейропротекция может быть обусловлена блокадой апоптоза нейронов в ответ на повреждающие воздействия, активацией синаптогенеза и нейрогенеза, опосредованного мозговым нейротрофическим фактором.

Таблица 4
Экспрессия VEGF в очаге ЭИСМ в условиях комбинированного применения ЭПО и ЛИ (количество клеток/усл. ед. площади Me | Q1-Q3 |)

Table 4
VEGF expression in the focus and EISM der the conditions of combined use of EPO and LR (number of cells/per unit area, Me | Q1-Q3 |)

Группы опытов Groups of experiments	3 сутки 3 day	7 сутки 7 day	14 сутки 14 day	30 сутки 30 day
1. ЛО (n=60) FO	4,29 3,58-4,89	4,75 4,01-5,26	4,98 4,07-5,515	4,15 3,51-4,88
2. ЭИСМ (n=60) EISM	6,06* 5,83-6,47	8,48* 8,12-8,55	9,46* 9,34-9,61	13,02* 13,01-13,13
3. ЭИСМ+ЭПО (n=60) EISM+EPO	7,01* 6,13-7,58	9,94* 8,93-10,47	10,78* 10,45-11,66	12,21* 11,96-12,58
4. ЭИСМ+ЛИ (n=60) EISM+LR	9,06* ^{***^} 9,02-9,46	12,63* ^{***^} 12,32-13,50	15,26* ^{***^} 14,47-15,61	28,16* ^{***^} 27,73-29,33
5. ЭИСМ+ЭПО+ЛИ (n=60) EISM+EPO+LR	8,61* ^{***} 8,15-8,82	13,51* ^{***^} 13,84-14,21	15,54* ^{***^} 15,42-15,65	24,58* ^{***^°} 24,53-24,73

Примечание: ЛО — ложнооперированные; * — значимые ($p < 0,01$) различия с группой 1; ** — с группой 2; ^ — с группой 3; ° — с группой 4.

Note: FO — falsely operated; * — significant ($p < 0.01$) differences with group 1; ** — with group 2; ^ — with group 3; ° — with group 4.

4. Наиболее выраженный нейропротекторный эффект при ЭИСМ зафиксирован нами в условиях комбинированного системного применения ЭПО и локального воздействия ЛИ. При морфометрической оценке препаратов СМ в области ишемического повреждения после комбинированного применения ЭПО и ЛИ обнаружено частичное восстановление исследуемых показателей: уменьшение площади отека, увеличение количества мелких кровеносных сосудов, а экспрессия VEGF в клетках статистически значимо выше на всех сроках наблюдения — 3, 7, 14, 30 сутки (табл. 2, 3, 4). Следует отметить, что по сравнению с монотерапией ЭПО или ЛИ при комбинированном лечении ЭИСМ выявлены наиболее выраженные изменения по увеличению количества мелких кровеносных сосудов.

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о синергизме нейропротекторного действия системного применения ЭПО и локального воздействия ЛИ при ЭИСМ в отношении изменений исследованных морфометрических показателей в очаге ишемического повреждения.

Полагаем, что полученные нами данные [15,16] могут быть использованы при экспериментально-клинических исследованиях, направленных на разработку новых методов лечения ишемии спинного мозга с использованием ЭПО и ЛИ.

Выводы

1. При ЭИСМ на 3, 7, 14, 30 сутки в мозговой ткани увеличиваются число мелких кровеносных сосудов, экспрессия VEGF в эндотелиоцитах, площадь отека тканей.

2. Применение ЭПО в суммарной дозе 15000 МЕ/кг при ЭИСМ приводит к увеличению в спинном мозге количества кровеносных сосудов, уменьшению площади отека тканей.

3. Локальное однократное воздействие ЛИ при ЭИСМ приводит в зоне ишемии к увеличению количества мелких кровеносных сосудов, прогрессивному возрастанию экспрессии VEGF в эндотелиоцитах, снижению площади отека тканей.

4. Комбинированное применение ЭПО и ЛИ при ЭИСМ приводит на 3, 7, 14 и 30 сутки к увеличению экспрессии VEGF в эндотелиоцитах, количества мелких кровеносных сосудов, уменьшению площади отека в тканях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Qureshi A.I., Afzal M.R., Suri M.F.K. A Population-Based Study of the Incidence of Acute Spinal Cord Infarction. *J. Vasc. Interv. Neurol.* 2017. vol. 9. № 4. P. 44-48.
2. Wang P., Jiang L., Zhou N., Zhou H., Liu H., Zhao W., Zhang H., Zhang X., Hu Z. Resveratrol ameliorates autophagic flux to promote functional recovery in rats after spinal cord injury. *Oncotarget.* 2018. Vol. 9. № 9. P. 8427-8440.
3. Zhou J., Huo X., Botchway B.O.A., Xu L., Meng X., Zhang S., Liu X. Beneficial Effects of Resveratrol-Mediated Inhibition of the mTOR Pathway in Spinal Cord Injury. *Neural Plast.* 2018. Vol. 25. № 1. P. 1-14. DOI: 10.1155 / 2018/7513748.
4. Скороходов А.П., Дудина А.А., Колесникова Е.А. Нейропротекция и восстановление нарушенных функций при ишемическом инсульте. *Consilium Medicum.* 2014. № 2. С.30-34.
5. Bunn H.F. Erythropoietin. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013. Vol. 3. № 3. P. 116-19.
6. Jelkmann W. Erythropoietin. *Front Horm Res.* 2016. Vol. 47. P. 115-27.
7. Головнева Е.С., Попов Г.К. Механизмы формирования нового сосудистого русла в ответ на высокоинтенсивное лазерное воздействие. В кн.: Козель А.И., Гиниатуллин Р.У., Головнева Е.С., Голощапова Ж.А.(ред.). Обоснование применения лазерных технологий в хирургии (экспериментальные исследования с внедрением их в клиническую практику). Челябинск: ООО «Пирс», 2009. С.125– 165.
8. Суфианова Г.З., Усов Л.А., А. Суфианов А. Новая малоинвазивная модель ишемии спинного мозга у крыс. *Бюлетень экспериментальной биологии и медицины.* 2002. Т. 133. № 1. С. 116–120.
9. David Kuhrt, Don M. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers. *Wojchowski. Blood.* 2015. Vol.125. № 23. P. 5336-3541..
10. Осиков М.В., Володченко А.М., Гиниатуллин Р.У., Федосов А.А. Комбинированное применение эритропоэтина и лазерного излучения при экспериментальном спинальном инсульте: морфофункциональные взаимосвязи. *Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке».* 2017. Т. 19. № 9. С. 171-174.
11. Осиков, М.В., Гиниатуллин Р.У., Володченко А.М. Нейропротекторный эффект эритропоэтина при экспериментальной ишемии спинного мозга. *Человек. Спорт. Медицина.* 2017. Т. 17. № 2. С. 40-48.
12. Осиков М.В., Гиниатуллин Р.У., Володченко А.М., Бойко М.С. Перспективные направления нейропротекторной терапии спинального ишемического инсульта Современные проблемы науки и образования. 2019. №3. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28777>.
13. Осиков М.В., Симонян Е.В., Гиниатуллин Р.У., Ахматов В.Ю., Ахматов К.В., Агеев Ю.И. и др. Плейотропные эффекты и новые лекарственные формы эритропоэтина: монография / под ред. М. В. Осикова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 208 с.
14. Yuan Q.C., Jiang L., Zhu L.H., Yu D.F. Impacts of Erythropoietin on Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 by the Extracellular Signal-regulated Kinase Signaling Pathway in a Neonatal Rat Model of Periventricular White Matter Damage. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2016. Vol. 38. № 1. P. 217-21.
15. А.И. Козель, Г.К. Попов, Р.У. Гиниатуллин, Л.В. Астахова, А.М. Володченко, Е.Н. Игнатьева, Т.Г. Кравченко Способ лечения ишемии спинного мозга в эксперименте Пат. 2496513 РФ. 2013.
16. Володченко А.М. Патогенетическое обоснование комбинированного применения эритропоэтина и лазерного излучения при ишемии спинного мозга (экспериментальное исследование). Автореф. дис...канд. мед. наук. Омск, 2019. 23 с.

Авторы

Гиниатуллин Равиль Усманович
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск
Доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии и судебной
медицины
454092, Российская Федерация, Челябинск, ул. Воровского, 64
prkom@chelsma.ru

Осиков Михаил Владимирович

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск

Доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии
454092, Российская Федерация, Челябинск, ул. Воровского, 64

Володченко Алексей Михайлович

Кандидат медицинских наук, зав. нейрохирургическим отделением № 2

ГБУЗ Областная клиническая больница №3, г. Челябинск

454021, Российская Федерация, г. Челябинск, пр. Победы, д. 287

R.U. Giniatullin¹, M.V. Osikov¹, A.M. Volodchenko²

QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND NEOANGIOGENESIS IN EXPERIMENTAL SPINAL CORD ISCHEMIA UNDER CONDITIONS OF COMBINED USE OF ERYTHROPOIETIN AND LASER RADIATION

¹South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation;

²Regional Clinical Hospital №3, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. *The aim of the work* — is to carry out a morphometric assessment of the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and neoangiogenesis and to justify the combined use of erythropoietin (EPO) and laser radiation (LI) in experimental spinal cord ischemia (EISM) from a pathogenetic standpoint. **Materials and methods of research.** The work was performed on 300 white nonlinear rats. EISM in rats was created according to the method proposed by G. Z. Sufianova, by total intravasal occlusion of the abdominal aorta and its branches. Histological, immunohistochemical, morphometric, and statistical methods were used in the work. **The results of the study.** The results obtained allow us to speak about the synergism of the neuroprotective effect of the systemic use of EPO and the local effect of LI in EISM in relation to the studied morphometric parameters in the focus of ischemic damage, including a decrease in the area of edema, the quantitative composition of small blood vessels, VEGF expression, depending on the timing of the experiments. **Conclusions.** 1. With EISM on days 3, 7, 14, 30 in the brain tissue of small blood vessels, VEGF expression in endotheliocytes is observed, tissue edema is observed. 2. The use of erythropoietin in a total dose of 15,000 IU/kg in EISM leads to an increase in the number of blood vessels in the spinal cord, a decrease in the area of edema. 3. Local single exposure to LI in EISM leads to an increase in the number of small blood vessels in the ischemic area, a progressive increase in the expression of VEGF in endotheliocytes, and a decrease in the area of edema. 4. The combined use of EPO and LI in EISM leads to an increase in the expression of VEGF in endotheliocytes, the number of small blood vessels, and a decrease in the area of edema on days 3, 7, 14 and 30.

Keywords: spinal ischemia, vascular endothelial growth factor, erythropoietin, laser radiation

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Ravil U. Giniatullin

prkom@chelsma.ru

Received 20.09.2021

For citation:

Giniatullin R.U., Osikov M.V., Volodchenko A.M. Quantitative assessment of the expression of vascular endothelial growth factor and neoangiogenesis in experimental spinal cord ischemia under conditions of combined use of erythropoietin and laser radiation. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2021, Vol. 18, no. 4, pp. 253–261. DOI: 10.22138/2500-0918-2021-18-4-253-261 (In Russ)

REFERENCES

1. Qureshi A.I., Afzal M.R., Suri M.F.K. A Population-Based Study of the Incidence of Acute Spinal Cord Infarction. *J. Vasc. Interv. Neurol.* 2017. vol. 9. № 4. pp. 44-48.
2. Wang P., Jiang L., Zhou N., Zhou H., Liu H., Zhao W., Zhang H., Zhang X., Hu Z. Resveratrol ameliorates autophagic flux to promote functional recovery in rats after spinal cord injury. *Oncotarget.* 2018. Vol. 9. № 9. P. 8427-8440.
3. Zhou J., Huo X., Botchway B.O.A., Xu L., Meng X., Zhang S., Liu X. Beneficial Effects of Resveratrol-Mediated Inhibition of the mTOR Pathway in Spinal Cord Injury. *Neural Plast.* 2018. Vol. 25. № 1. P. 1-14. DOI: 10.1155 / 2018/7513748
4. Skorokhodov A. P., Dudina A. A., Kolesnikova E. A. Neuroprotection and restoration of impaired functions in ischemic stroke. *Consilium Medicum.* 2014. No. 2. P. 30-34 (in Russ).
5. Bunn H.F. Erythropoietin. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013. Vol. 3. № 3. P. 116-19.
6. Jelkmann W. Erythropoietin. *Front Horm Res.* 2016. Vol. 47. pp. 115-27.
7. Golovneva E. S., Popov G. K. Mechanisms of formation of a new vascular bed in response to high-intensity laser exposure. In: Kozel A. I., Giniatullin R. U., Golovneva E. S., Goloshchapova Zh. A. (ed.). Justification of the use of laser technologies in surgery (experimental studies with their introduction into clinical practice). Chelyabinsk: LLC «Pier», 2009. pp. 125-165 (in Russ).
8. Sufianova G. Z., Usov L. A., A. Sufianov A. A new minimally invasive model of spinal cord ischemia in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2002. Vol. 133. No. 1. pp. 116-120 (in Russ).
9. David Kuhrt, Don M. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers. *Wojchowski. Blood.* 2015. Vol.125. № 23. P. 5336-3541..
10. Osikov M. V., Volodchenko A.M., Giniatullin R. U., Fedosov A. A. Combined use of erythropoietin and laser radiation in experimental spinal stroke: morphofunctional relationships. *Journal of scientific articles «Health and Education in the XXI century».* 2017. Vol. 19. No. 9. pp. 171-174 (in Russ).
11. Osikov, M. V., Giniatullin R. U., Volodchenko A.M. Neuroprotective effect of erythropoietin in experimental spinal cord ischemia. *Person. Sport. Medicine.* 2017. Vol. 17. No. 2. pp. 40-48 (in Russ).
12. Osikov M. V., Giniatullin R. U., Volodchenko A.M., Boyko M. S. Promising directions of neuroprotective therapy of spinal ischemic stroke *Modern problems of science and education.* 2019. No. 3. Access mode: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28777> (in Russ).
13. Osikov M. V., Simonyan E. V., Giniatullin R. U., Akhmatov V. Yu., Akhmatov K. V., Ageev Yu. I., et al. Pleiotropic effects and new dosage forms of erythropoietin: monograph / edited by M. V. Osikov. Moscow: GEOTAR-Media, 2019. 208 p. (in Russ)
14. Yuan Q.C., Jiang L., Zhu L.H., Yu D.F. Impacts of Erythropoietin on Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 by the Extracellular Signal-regulated Kinase Signaling Pathway in a Neonatal Rat Model of Periventricular White Matter Damage. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2016. Vol. 38. № 1. P. 217-21.
15. A. I. Kozel, G. K. Popov, R. U. Giniatullin, L. V. Astakhova, A.M. Volodchenko, E. N. Ignatieva, T. G. Kravchenko Method of treatment of spinal cord ischemia in the experiment Pat. 2496513 of the Russian Federation. 2013 (in Russ).
16. Volodchenko A.M. Pathogenetic justification of the combined use of erythropoietin and laser radiation in spinal cord ischemia (experimental study). Abstract of the dissertation of the Candidate of Medical Sciences. Omsk, 2019. 23 p. (in Russ)

Authors

Ravil U. Giniatullin

South Ural State Medical University

MD, Professor, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine

64 Vorovsky str. Chelyabinsk Russian Federation 454092

prkom@chelsma.ru

Mihail V. Osikov

MD, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology

South Ural State Medical University

64 Vorovsky str. Chelyabinsk Russian Federation 454092
prkom@chelsma.ru

Aleksey M. Volodchenko
Candidate of Medical Sciences, Head of the Neurosurgical department No. 2
Regional Clinical Hospital №3, Chelyabinsk
287 Pobedy Avenue Chelyabinsk Russian Federation 454136