

УДК 616.831-005.4-085.357-085.849.19

Р.У. Гиниатуллин¹, М.В. Осиков¹, А.Н. Кузьмин²

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И НЕОАНГИОГЕНЕЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ 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* — исследовать влияние комбинированного применения эритропоэтина (ЭПО) и лазерного излучения (ЛИ) на морфометрические особенности экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и неоангиогенеза при экспериментальной ишемии коры головного мозга (ИКГМ). *Материалы и методы исследования.* Работа выполнена на 120 белых нелинейных крысах. ИКГМ создавали путем диатермокоагуляции пиальных сосудов в сенсомоторной зоне. ЭПО применяли внутривенно в суммарной дозе 15000 МЕ/кг, ЛИ — однократно на область ишемического очага (970 нм, 2 мин). В работе использовались гистологические (окраска срезов гематоксилином и эозином), иммуногистохимические (определяли экспрессию VEGF), морфометрические (подсчитывали число клеток с экспрессией VEGF, число мелких кровеносных сосудов, измеряли площадь инфаркта), статистические методы исследования. *Результаты исследования.* Полученные результаты свидетельствуют, что в механизме нейропротекторного действия ЭПО выступает улучшение микроциркуляции за счет увеличения количества мелких кровеносных сосудов, а воздействие ЛИ приводит к увеличению как количества кровеносных сосудов, так и к повышению экспрессии VEGF в очаге повреждения. *Выводы.* 1. При экспериментальной ИКГМ у крыс в очаге повреждения повышается экспрессия VEGF и снижается количество мелких кровеносных сосудов на 3, 7, 14, 30 сутки эксперимента. 2. Системное применение при экспериментальной ИКГМ ЭПО в суммарной дозе 15000 МЕ/кг приводит к повышению количества мелких кровеносных сосудов, а локальное воздействие на область ишемии ЛИ — к повышению экспрессии VEGF и количества мелких кровеносных сосудов на 3, 7, 14, 30 сутки эксперимента; представительство кровеносных сосудов выше после воздействия ЛИ по сравнению с применением ЭПО. 3. Максимальная экспрессия VEGF и количество мелких кровеносных сосудов при экспериментальной ИКГМ выявлены после комбинированного применения ЭПО и ЛИ.

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

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Гиниатуллин Равиль Усманович

rgkom@chelsma.ru

Дата поступления 20.09.2021 г.

Образец цитирования:

Гиниатуллин Р.У., Осиков М.В., Кузьмин А.Н. Морфометрические аспекты экспрессии фактора роста эндотелия сосудов и неоангиогенеза при экспериментальной церебральной ишемии в условиях комбинированного применения эритропоэтина и лазерного излучения. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2021, Том 18, №4, с. 262–269, DOI: 10.22138/2500-0918-2021-18-4-262-269

Введение

Показатели заболеваемости и смертности от инсульта среди лиц трудоспособного возраста занимают второе место. В РФ инсульт ежегодно развивается более чем у 450 тыс. человек, из них около 35% больных умирают в остром периоде заболевания [1]. До 80% от общего числа острых нарушений мозгового кровообращения приходится на ишемические инсульты. Доля последних в структуре общей смертности в нашей стране составляет 21,4%, а инвалидизация после перенесенного инсульта достигает 3,2 на 10000 населения, занимая первое место среди всех причин первичной инвалидности.

Ведущим звеном патогенеза ишемического инсульта является ограничение кровоснабжения участка головного мозга, запуск патохимических процессов, приводящих к аносмической деполяризации клеточных мембран и гибели нейронов [1]. Вторичная дисфункция гематоэнцефалического барьера, в том числе дисфункция эндотелия микрососудистого русла, пролонгирует повреждение нейронов головного мозга. Известно, что при ишемическом инсульте в очаге повреждения компенсаторно повышается экспрессия фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), что индуцирует пролиферацию эндотелиоцитов и неоангиогенез в очаге повреждения. Применяемый в настоящее время арсенал нейропротекторных методов воздействия не удовлетворяет терапевтические потребности. В связи с этим, поиск факторов, активирующих на ранних этапах ишемического инсульта синтез и экспрессию VEGF является патогенетически обоснованным в связи с уменьшением площади очага ишемического повреждения в головном мозге и открывает новые перспективы в лечении ишемического инсульта. В частности, привлекает внимание эритропоэтин (ЭПО) — гликопротеин с плейотропными эффектами, основная часть которого синтезируется пери- и тубулярными клетками почек, а также нейронами, клетками микроглии, гепатоцитами и др. клетками [2, 3]. Открытие рецепторов для ЭПО на нейронах и эндотелиоцитах позволило рассматривать его в качестве эндогенного нейротропного агента при ишемическом повреждении головного мозга. Известно, что воздействие ЛИ увеличивает экспрессию VEGF, прежде всего, в сосудах микроциркуляторного русла, стимулирует неоангиогенез в зоне церебральной ишемии [4].

Цель работы — исследовать влияние комбинированного применения ЭП и ЛИ на морфометрические особенности экспрессии VEGF и неоангиогенеза при экспериментальной ИКГМ.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 120 белых нелинейных половозрелых крысах обоего пола массой 220-250г. 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.).

Животные были разделены на 5 групп: 1 группа (n=24) — контроль, проводили трепанацию черепа и вскрытие твердой мозговой оболочки без диатермокоагуляции пиальных сосудов (ложнооперированные животные); группа 2 (n=24) — модель ишемии коры головного мозга (ИКГМ) создавали путем диатермокоагуляции пиальных сосудов коры головного мозга в сенсомоторной зоне; группа 3 (n=24) — животные с ИКГМ, которым вводили внутрибрюшинно ЭПО; группа 4 (n=24) — животные с ИКГМ, у которых применяли ЛИ; группа 5 (n=24) — животные с ИКГМ, у которых применяли ЭПО в сочетании с ЛИ. ЭПО («Эпокрин 2000МЕ», ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург) вводили внутрибрюшинно трехкратно через 3, 24, 48 часов после индукции ИКГМ из расчета 5000 МЕ на 1 кг массы. ЛИ применяли через 2 часа после индукции ИКГМ однократно на область ишемического очага с расстояния 2,5 см от поверхности операционного поля в непрерывном режиме диодным лазером «ИРЭ-ПОЛЮС» (ООО НТО «ИРЭ-Полюс», Россия), длина волны 970 нм, моноволоконный световод 0,6 мм, мощность 1Вт, экспозиция 2 мин. В каждой группе исследования проводили на 3, 7, 14, 30 сутки. Головной мозг фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по методу М. Бильшовского для выявления миелиновых волокон. На микроскопе «Leica DMRXA» (Германия) подсчитывали с помощью компьютерной программы анализа изображений «ImageScope M» (Россия, Москва) на условной единице площади количество мелких кровеносных сосудов при увеличении $\times 400$, измеряли площадь инфаркта при увеличении $\times 200$ (мкм²). Экспрессию VEGF в эндотелиоцитах в области ишемии мозга исследовали иммуногистохимическим методом с помощью набора специфических для крыс антител

VEGF («SpringBio», США) на иммуногистостейнере «Bench Mark XT» («Ventana», USA) на условной единице площади в 10 случайно отобранных полях зрения при увеличении $\times 400$. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics v. 19. Данные представлены в виде медианы (Me) и квартилей [Q1-Q3]. Значимость различий между группами оценивали при помощи критериев Крускалла-Уолиса, Манна-Уитни, Фридмана.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено (табл. 1), что у крыс экспрессия VEGF в очаге ишемии увеличивается с 3 суток эксперимента (на 59% по медиане по сравнению с контрольной группой) и сохраняется на 7 сутки (увеличение на 105%), 14 сутки (увеличение на 200%), 30 сутки (увеличение на 295%) ИКГМ.

Таблица 1
Экспрессия VEGF в очаге ИКГМ в условиях комбинированного применения ЭПО и ЛИ
(количество клеток/усл. ед. площади Me |Q1-Q3|)

Table 1
VEGF expression in the focus and ICGM under 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 14day	30 сутки 30 day
1. Контроль (n=24) Control	8,50 7,00; 9,00	9,50 8,00; 10,00	10,00 8,75; 11,25	10,00 10,00; 12,00
2. ИКГМ (n=24) ICGM	13,50* 12,75; 15,0	19,50* 18,0; 20,25	30,00* 28,75; 31,00	39,50* 38,00; 41,25
3. ИКГМ+ЭПО (n=24) ICGM+EPO	14,00* 12,75; 15,0	20,00* 17,75; 21,25	30,00* 28,75; 31,5	40,50* 39,0; 42,25
4. ИКГМ+ЛИ (n=24) ICGM+LR	17,00* ^{***^} 16,0;17,25	29,00 ^{***^} 27,75; 30,0	40,50 ^{***^} 39,0; 42,0	54 ^{***^} 50,7; 55,25
5. ИКГМ+ЭПО+ЛИ (n=24) ICGM+EPO+LR	28,50* ^{***^°} 27,75; 30,0	41,0* ^{***^°} 39,0; 22,0	49,00* ^{***^°} 47,75;55,25	66,50* ^{***^°} 59,75;69,25

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

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

Таблица 2
Количество мелких кровеносных сосудов в очаге ИКГМ в условиях комбинированного применения ЭПО и ЛИ (на усл. ед. площади, |Q1-Q3|)

Table 2
The number of small blood vessels in the focus and ICGM under the conditions of combined use of EPO and LR (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. Контроль (n=24) Control	14,88 11,65-16,07	14,80 13,31-15,67	15,54 14,08-16,70	14,88 14,16-15,51
2. ИКГМ (n=24) ICGM	5,27* 4,43-5,54	7,13* 6,41-7,87	8,84* 7,73-10-14	14,26* 11,93-16,01
3. ИКГМ+ЭПО (n=24) ICGM+EPO	12,92* 11,15-13,86	16,27* 15,62-17,04	19,41* 18,52-20,42	25,63* 23,76-27,60
4. ИКГМ+ЛИ (n=24) ICGM+LR	15,90* ^{***^} 15,32-17,31	19,32* ^{***^} 18,61-20,38	23,13 ^{***^} 21,95-25,73	29,12 ^{***^} 27,12-30,65
5. ИКГМ+ЭПО+ЛИ (n=24) ICGM+EPO+LR	22,18* ^{***^°} 21,09-22,74	25,40* ^{***^°} 24,85-26,10	31,28* ^{***^°} 30,36-33,83	34,88* ^{***^°} 33,10-36,51

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

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

Таблица 3

Площадь инфаркта при ИКГМ в условиях комбинированного применения ЭПО и ЛИ (мкм², Ме |Q1-Q3|)

Table 3

The area of infarction in ICGM under the conditions of combined use of EPO and LR (mkm², Me |Q1-Q3|)

3 сутки 3 day		7 сутки 7 day		14 сутки 17 day		30 сутки 30 day	
Группа 2. ИКГМ (n=10) Group 2. ICGM (n=10)	Группа 5. ИКГМ+ЭПО+ЛИ (n=10) Group 5. ICGM+ EPO+LR (n=10)	Группа 2. ИКГМ (n=10) Group 2. ICGM (n=10)	Группа 5. ИКГМ+ЭПО+ЛИ (n=10) Group 5. ICGM+EPO+LR (n=10)	Группа 2. ИКГМ (n=10) Group 2. ICGM (n=10)	Группа 5. ИКГМ+ЭПО+ЛИ (n=10) Group 5. ICGM+ EPO+LR (n=10)	Группа 2. ИКГМ (n=10) Group 2. ICGM (n=10)	Группа 5. ИКГМ+ЭПО+ЛИ (n=10) Group 5. ICGM+ EPO+LR (n=10)
557,13 [541,38-582,23]	396,97* 388,64-407,02	604,06 593,48-625,80	280,64* 270,34-288,87	734,66 718,89-744,00	240,91* 230,83-255,10	994,65 968,38-995,85	194,55* 188,58-219,04

Примечание: * — значимые (p<0,01) различия с группой 2.

Note: * — significant (p<0.01) differences with group 2.

При этом отмечены значимые (p<0,01) изменения между экспрессией VEGF при ИКГМ на 7 сутки по сравнению с 3 сутками, на 30 сутки по сравнению с 3, 7, 14 сутками.

При морфологической оценке очага повреждения при ИКГМ обнаружены уменьшение количественного представительства мелких кровеносных сосудов и увеличение площади инфаркта (табл. 2, 3). Так, на 3, 7, 14 сутки количество мелких сосудов значимо снижалось по сравнению с контрольной группой и не отличалось от нее на 30 сутки эксперимента, а площадь инфаркта, напротив, была максимальной. В динамике наблюдения число мелких сосудов на 14 сутки было выше (p<0,01), чем на 3, 7, 14 сутки наблюдения.

Применение ЭПО при ИКГМ не приводит к статистически значимому (p<0,05) изменению экспрессии VEGF в зоне церебральной ишемии на 3, 7, 14, и 30 сутки опыта (табл. 1), а также площади инфаркта. Как и в группе крыс с ИКГМ, в динамике наблюдения за животными после введения ЭПО наблюдаются различия (p<0,01) между экспрессией VEGF на 7 сутки по сравнению с 3 сутками, на 14 сутки по сравнению с 3 и 7 сутками, на 30 сутки по сравнению с 3, 7, 14 сутками наблюдения. VEGF на 7 сутки по сравнению с 3 сутками, на 14 сутки по сравнению с 3 и 7 сутками, на 30 сутки по сравнению с 3, 7, 14 сутками наблюдения.

На фоне применения ЭПО в очаге ишемического повреждения достоверно увеличивается представительство мелких кровеносных сосудов на 3, 7, 14 и 30 сутки наблюдения, незначительно снижается площадь инфаркта.

В динамике эксперимента количество сосудов было выше (p<0,01) на 7 и 14 сутки по сравнению с 3 сутками, на 30 сутки — по сравнению с 3, 7, 14 сутками.

Воздействие ЛИ через 2 часа от индукции ИКГМ на зону церебральной ишемии вызывает достоверное повышение экспрессии VEGF на 3 сутки (на 26% по медиане по сравнению с группой крыс с ИКГМ), 7 сутки (на 49%), 14 сутки (на 30%), 30 сутки (на 37%). Примечательно, что от 3 к 30 суткам наблюдения экспрессия VEGF прогрессивно увеличивается (p<0,01), достигая максимальных значений на 30 сутки наблюдений. В то же время площадь инфаркта изменяется незначительно.

Отметим, что во все сроки наблюдения в группе крыс с ИКГМ, получивших ЛИ, экспрессия VEGF статистически значимо выше, чем в группе крыс с ИКГМ и введением ЭПО. При оценке количества мелких кровеносных сосудов в очаге повреждения при ИКГМ в условиях воздействия ЛИ выявлено значимое увеличение их представительства на 3, 7, 14 и 30 сутки наблюдения при сравнении с контрольной группой. Показательно, что количество сосудов в очаге церебральной ишемии в группе крыс с ИКГМ после воздействия ЛИ значимо превышает количество сосудов в группе крыс с ИКГМ после применения ЭПО на 3, 7, 14 и 30 сутки эксперимента.

Комбинированное применение ЛИ и ЭПО при экспериментальной ИКГМ приводит к выраженной экспрессии VEGF: увеличению на 3 сутки на 111% по медиане по сравнению с группой крыс с ИКГМ, на 7 сутки — на 110%, на 14 сутки — на 63%, на 30 сутки — на 68%.

У данной группы крыс количество мелких кровеносных сосудов в очаге церебральной ишемии статистически значимо превышает количество сосудов в группах крыс с ИКГМ, а также у крыс с

ИКГМ и воздействием ЛИ или применением ЭПО на 3, 7, 14 и 30 сутки эксперимента. В эти же сроки достоверно уменьшается площадь инфаркта в 5 группе опытов по сравнению со 2 группой (табл. 3).

Обнаруженные изменения экспрессии VEGF и количества мелких кровеносных сосудов в очаге повреждения при экспериментальной ИКГМ являются отражением фокальной ишемии головного мозга и нарушения целостности ГЭБ. При этом одним из основных компенсаторных механизмов на повреждающее воздействие ишемических изменений в ткани головного мозга является экспрессия VEGF в ишемизированной ткани, способствующая пролиферации эндотелиоцитов и в конечном итоге к неоангиогенезу.

Применение ЭПО при ИКГМ не приводит к повышению экспрессии VEGF, но активирует неоангиогенез, увеличивая количество мелких кровеносных сосудов в ишемическом очаге.

Это позволяет предположить, что эффекты ЭПО не зависят от экспрессии VEGF, а обусловлены прямым рецептор-опосредованным влиянием ЭПО на эндотелиоциты [5]. В эндотелиоцитах в условиях гипоксии нервной ткани комплекс рецептора ЭПО и β CR соединяется с рецептором для VEGF, что стимулирует неоангиогенез церебральных сосудов и ЭПО-опосредованный синтез NO эндотелиоцитами [6]. Описаны пролиферативный и хемотаксический эффекты ЭПО в отношении эндотелиоцитов, особенно выраженные в постишемическом периоде. Полагаем, что указанные механизмы действия ЭПО, а также увеличение экспрессии VEGF при воздействии ЛИ, оказывают синергичный эффект в отношении неоангиогенеза в очаге ишемии при ИКГМ.

Следует подчеркнуть, что в механизме нейропротекторного действия ЭПО выступают улучшение микроциркуляции за счет увеличения количества мелких кровеносных сосудов в очаге повреждения, восстановление нейронов и уменьшение площади инфаркта [7], снижение количества лейкоцитов в крови, что приводит к частичному восстановлению неврологического и этологического статуса [8, 9, 10]. Специфическим для ЭПО является эритропоэтический эффект — увеличение количества эритроцитов, концентрации гемоглобина в крови, а для ЛИ — повышение экспрессии VEGF в очаге повреждения [11, 12].

Полученные данные [7] могут быть использованы при экспериментально-клинических исследованиях, направленных на разработку новых методов лечения ИКГМ с использованием ЭПО и ЛИ.

Выводы

1. При экспериментальной ИКГМ у крыс в очаге повреждения повышается экспрессия VEGF, снижается количество мелких кровеносных сосудов и увеличивается площадь инфаркта на 3, 7, 14, 30 сутки эксперимента.

2. Системное применение при экспериментальной ИКГМ ЭПО в суммарной дозе 15000 МЕ/кг приводит к повышению количества мелких кровеносных сосудов, снижению площади инфаркта, а локальное воздействие на область ишемии ЛИ — к повышению экспрессии VEGF и количества мелких кровеносных сосудов на 3, 7, 14, 30 сутки эксперимента; представительство кровеносных сосудов выше после воздействия ЛИ по сравнению с применением ЭПО.

3. Максимальная экспрессия VEGF, увеличение количества мелких кровеносных сосудов и снижение площади инфаркта при экспериментальной ИКГМ выявлены после комбинированного применения ЭПО и ЛИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Мартынов М.Ю., Камчатнов П.Р. Церебральный инсульт: проблемы и решения. Вестник РГМУ 2006. №4. С. 28-32.

2. Осиков М.В. Влияние эритропоэтина на процессы свободно радикального окисления и экспрессию гликопротеинов в тромбоцитах при хронической почечной недостаточности. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2014. №1. С. 30-33.

3. Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Агеев Ю.И. Антиоксидантный эффект эритропоэтина при экспериментальной хронической почечной недостаточности. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2015. №8. 162-165.

4. 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.

5. Kimáková P., Solár P., Solárová Z., Komel R., Debeljak N. Erythropoietin and Its Angiogenic Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V.18. P. 1519-14.

6. Lombardero M., Kovacs K., Scheithauer B.W. Erythropoietin: A hormone with multiple functions. *Pathobiology* 2011. V.78. P. 41-53.

7. 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. Пат. РФ, № 2495688; 2013.

8. Кузьмин А.Н. Нейропротекторные аспекты комбинированного применения эритропоэтина и лазерного излучения при экспериментальной ишемии коры головного мозга. Автореф. дис...канд. мед. наук. Москва, 2019. 24 с.

9. Осиков М.В., Гиниатуллин Р.У., Кузьмин А.Н. Оценка неврологического статуса и микроциркуляции при экспериментальной ишемии коры головного мозга в условиях комбинированного применения эритропоэтина и лазерного излучения. *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2017. Т. 19, № 9. С. 175-179.

10. Осиков М.В., Гиниатуллин Р.У., Кузьмин А.Н. Влияние эритропоэтина и лазерного излучения на неврологический статус и морфологию очага повреждения в динамике экспериментальной церебральной ишемии. *Современные проблемы науки и образования.* 2017. № 5 [https:// scienceeducation.ru/ru/article/view?id=26782](https://scienceeducation.ru/ru/article/view?id=26782).

11. Осиков М.В., Гиниатуллин Р.У., Кузьмин А.Н. Нейропротекторный эффект эритропоэтина при экспериментальной ишемии головного мозга. *Человек. Спорт. Медицина*, 2017. Т. 17. № 4. С. 41-49.

12. Осиков, М.В., Гиниатуллин Р.У., Кузьмин А.Н., Бойко М.С., Байсакалова Е.Д. Гематологические показатели при экспериментальной ишемии коры головного мозга в условиях применения эритропоэтина. *Современные проблемы науки и образования.* 2018. № 5 [https:// scienceeducation.ru/ru/article/view?id=27944](https://scienceeducation.ru/ru/article/view?id=27944).

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

Кузьмин Андрей Николаевич

Кандидат медицинских наук, зав. нейрохирургическим отделением №1

ГБУЗ Областная клиническая больница №3, г. Челябинск

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

R. U. Giniatullin¹, M. V. Osikov¹, A. N. Kuzmin²

MORPHOMETRIC ASPAKI THE EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN BLOOD VESSELS AND ANGIOGENESIS IN EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA IN 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 investigate the effect of the combined use of erythropoietin (EPO) and laser radiation (LR) on the morphometric features of the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and neoangiogenesis in experimental cerebral cortex ischemia (ICGM). **Materials and methods of research.** The work was performed on 120 white nonlinear rats. ICGM was created by diathermocoagulation of pial vessels in the sensorimotor zone. EPO was applied intraperitoneally at a total dose of 15,000 IU/kg, laser radiation was applied once to the area of the ischemic focus (970 nm, 2 min). The study used histological (staining of sections with hematoxylin and eosin and according to the method of M. Bilshovsky), immunohistochemical (determining the expression of VEGF), morphometric (the number of cells with VEGF expression, the number of small blood vessels were counted, the infarction area was measured), statistical methods of research. **The results of the study.** The obtained results indicate that the mechanism of the neuroprotective action of EPO is an improvement in microcirculation due to an increase in the number of small blood vessels, and the effect of LR leads to an increase in both the number of blood vessels and an increase in the expression of VEGF in the lesion. **Conclusions.** 1. During experimental ICGM in rats, the expression of VEGF in the lesion increases and the number of small blood vessels decreases on the 3rd, 7th, 14th, and 30th days of the experiment. 2. Systemic use of EPO in an experimental ICGM at a total dose of 15,000 IU/kg leads to an increase in the number of small blood vessels, and local exposure to the area of LR ischemia leads to an increase in the expression of VEGF and the number of small blood vessels on the 3rd, 7th, 14th, 30th day of the experiment; the representation of blood vessels is higher after exposure to LR compared with the use of EPO. 3. The maximum expression of VEGF and the number of small blood vessels in experimental ICGM were detected after the combined use of EPO and LR.

Keywords: cerebral 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., Kuzmin A.N. Morphometric aspaki the expression of vascular endothelial growth factor in blood vessels and angiogenesis in experimental cerebral ischemia in 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. 262–269. DOI: 10.22138/2500-0918-2021-18-4-262-269 (In Russ)

REFERENCES

1. Gusev E. I., Skvortsova V. I., Martynov M. Yu., Kamchatnov P. R. Cerebral stroke: problems and solutions. Bulletin of RSMU. 2006. No. 4. pp. 28-32 (in Russ).
2. Osikov M. V. The effect of erythropoietin on the processes of free radical oxidation and the expression of glycoproteins in platelets in chronic renal failure. Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2014. No. 1. pp. 30-33 (in Russ).

3. Osikov M. V., Telesheva L. F., Ageev Yu. I. The antioxidant effect of erythropoietin in experimental chronic renal failure. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2015. No. 8. pp. 162-165 (in Russ).
4. 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).
5. Kimáková P., Solár P., Solárová Z., Komel R., Debeljak N. Erythropoietin and Its Angiogenic Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. P. 1519-14.
6. Lombardero M., Kovacs K., Scheithauer B.W. Erythropoietin: A hormone with multiple functions. *Pathobiology* 2011. V.78. P. 41-53.
7. Kozel A. I., Popov G. K., Giniatullin R. U., Astakhova L. V., Kuzmin A. N., Ignatieva E. N., Kravchenko T. G. Method of treating cerebral ischemia in an experiment. Pat. RF, No. 2495688; 2013 (in Russ).
8. Kuzmin A. N. Neuroprotective aspects of the combined use of erythropoietin and laser radiation in experimental cerebral cortex ischemia. Abstract of the dissertation of the Candidate of Medical Sciences. Moscow, 2019. 24 p. (in Russ)
9. Osikov M. V., Giniatullin R. U., Kuzmin A. N. Assessment of the neurological status and microcirculation in experimental cerebral cortex ischemia under conditions of combined use of erythropoietin and laser radiation. *Health and education in the XXI century.* - 2017. Vol. 19, No. 9. pp. 175-179 (in Russ).
10. Osikov M. V., Giniatullin R. U., Kuzmin A. N. The influence of erythropoietin and laser radiation on the neurological status and morphology of the lesion in the dynamics of experimental cerebral ischemia. *Modern problems of science and education.* 2017. № 5 [https:// scienceeducation.ru/ru/article/view?id=26782](https://scienceeducation.ru/ru/article/view?id=26782) (in Russ).
11. Osikov M. V., Giniatullin R. U., Kuzmin A. N. Neuroprotective effect of erythropoietin in experimental cerebral ischemia. *Sport. Medicine*, 2017. Vol. 17. No. 4. pp. 41-49 (in Russ).
12. Osikov, M. V., Giniatullin R. U., Kuzmin A. N., Boyko M. S., Baisakalova E. D. Hematological parameters in experimental cerebral cortex ischemia under the conditions of erythropoietin use. *Modern problems of science and education.* 2018. No. 5 [https:// scienceeducation.ru/ru/article/view?id=27944](https://scienceeducation.ru/ru/article/view?id=27944) (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

Andrey N. Kuzmin

Candidate of Medical Sciences, Head of the Neurosurgical department No. 1

Regional Clinical Hospital №3, Chelyabinsk

287 Pobedy Avenue Chelyabinsk Russian Federation 454136

gkb3-chel@mail.ru