

Изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии

Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь

УО Гродненский государственный медицинский университет Минздрава Республики Беларусь, Гродно, Республика Беларусь

Резюме. Введение. АТФ-синтаза является ключевым ферментом синтеза АТФ. Изучение ее содержания в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии может отражать изменения функционального состояния разных нейронов и их чувствительность к этому патологическому воздействию. Цель исследования – выявить закономерности изменения иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах различных отделов мозга крысы при субтотальной ишемии разной длительности.

Материалы и методы. Моделирование субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) осуществлялось посредством перевязки обеих общих сонных артерий (n=12: контрольная группа – n=4, 30 минут субтотальной ишемии – n=4, 3 часа субтотальной ишемии – n=4); контрольным животным проводилась ложная операция. Фронтальные парафиновые срезы окрашивали по Нисслю для идентификации структур мозга и иммуногистохимически на АТФ-синтазу. Иммунореактивность АТФ-синтазы выражали в единицах оптической плотности $\times 10^3$.

Результаты. Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы при двусторонней перевязке обеих общих сонных артерий в структурах мозга происходит в разной степени и не во всех исследованных структурах. Наиболее выраженное и быстрое снижение содержания АТФ-синтазы отмечено в конечном мозге, а именно в височной и ретроспленальной агранулярной коре. Наименее выраженные изменения в коре – в структурах гиппокампа, в нейронах II слоя поля СА2. В структурах таламуса, гипоталамуса и среднего мозга динамика АТФ-синтазы варьирует. В структурах продолговатого мозга снижение иммунореактивности происходит медленнее и менее выражено. В мозжечке иммунореактивность АТФ-синтазы не изменяется после 30-минутной СИГМ, но снижается после 3-часовой СИГМ в ядрах и клетках Пуркиньи некоторых участков коры мозжечка.

Заключение. При экспериментальной церебральной ишемии степень и скорость изменения содержания АТФ-синтазы в структурах головного мозга крысы сильно различаются и зависят как от отдела мозга, так и от нейромедиаторной природы нейронов.

Ключевые слова: АТФ-синтаза, ишемия, иммуногистохимия, мозг, крыса

Для корреспонденции: Елизавета Валентиновна Узлова. E-mail: uzlovaliza@gmail.com

Для цитирования: Узлова Е.В., Зиматкин С.М., Бонь Е.И. Изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах мозга при экспериментальной церебральной ишемии. Клини. эксп. морфология. 2023;12(1):68–76. DOI: 10.31088/СЕМ2023.12.1.68-76.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта БРФФИ М21М-054 «Оценка энергетического потенциала и депо кислорода нейронов мозга для прогнозирования их чувствительности к ишемии», № 20213456.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Статья поступила 06.05.2022. Получена после рецензирования 30.05.2022. Принята в печать 15.09.2022.

Changes in the content of ATP synthase in brain neurons during experimental cerebral ischemia

E.V. Uzlova, S.M. Zimatkin, E.I. Bon

Grodno State Medical University, Ministry of Health of the Republic of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

Abstract. Introduction. ATP synthase is a key component of ATP synthesis. The study of its content in brain neurons in experimental cerebral ischemia may reflect changes in the functional state of different neurons and their sensitivity to the pathological effect. The study aimed to reveal patterns in ATP synthase immunoreactivity in neurons of various parts of the rat brain during subtotal ischemia of various durations. **Materials and methods.** Modeling of subtotal cerebral ischemia (SCI) was carried out by ligation of both common carotid arteries (n=12: control group – n=4, 30-minute SCI – n=4, 3-hour SCI – n=4); the control

animals underwent a sham surgery. Frontal paraffin sections were stained according to the Nissl method to identify brain structures and immunohistochemically for ATP synthase. ATP synthase immunoreactivity was expressed in units of optical density $\times 10^3$.

Results. Changes in the immunoreactivity of ATP synthase in brain structures occur to varying degrees and not in all studied structures. The most pronounced and rapid decrease in the content of ATP synthase was observed in telencephalon, namely in the temporal and retrosplenial agranular cortex. The least pronounced changes in the cortex were in the structures of the hippocampus, in the neurons of layer II of the CA2 field. In the structures of the thalamus, hypothalamus, and midbrain the dynamic varied. In the structures of the medulla oblongata, the decrease in immunoreactivity occurs more slowly and less pronounced.

Conclusion. During experimental cerebral ischemia the degree and rate of change in the content of ATP synthase in rat brain structures vary greatly and depend both on the brain region and the neurotransmitter nature of neurons.

Keywords: ATP synthase, ischemia, immunohistochemistry, brain, rat

Corresponding author: Elizaveta V. Uzlova. E-mail: uzlovaliza@gmail.com

For citation: Uzlova E.V., Zimatkin S.M., Bon E.I. Changes in the content of ATP synthase in brain neurons during experimental cerebral ischemia. Clin. exp. morphology. 2023;12(1):68–76 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.68-76.

Funding. The study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research M21M-054 “Evaluation of the energy potential and oxygen depot of brain neurons to predict their sensitivity to ischemia”, Project No. 20213456.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 06.05.2022. **Received in revised form** 30.05.2022. **Accepted** 15.09.2022.

Введение

АТФ-синтаза является одним из основных белков внутренней мембраны митохондрий. Она не только определяет морфологию внутренней мембраны, но и обеспечивает последний этап процесса окислительного фосфорилирования – синтез аденозинтрифосфата (АТФ) из аденозиндифосфата (АДФ) и неорганического фосфата. При определенных условиях АТФ-синтаза способна осуществлять обратный процесс – гидролиз АТФ. Баланс между данными процессами синтеза и гидролиза с использованием энергии трансмембранного протонного градиента – необходимое условие эффективного клеточного метаболизма и выживания клеток при патологии.

АТФ-синтаза представляет собой «молекулярную машину» из двух крупных компонентов – F_0 и F_1 , состоящих из множества субъединиц. Известно, что нарушения сборки и/или функционирования АТФ-синтазы ассоциированы со множеством нейродегенеративных заболеваний.

N. Mnatsakanyan и E.A. Jonas [1] выдвинуто предположение, что ишемические/реперфузионные повреждения митохондрий приводят к открытию канала утечки с-фрагмента АТФ-синтазы и, как следствие, необратимой диссоциации F_0 и F_1 компонентов АТФ-синтазы, что влечет за собой гибель клеток [1]. Следовательно, изменение содержания АТФ-синтазы при ишемическом воздействии может служить маркером скорой гибели клеток, а разное время проявления этих изменений – мерой их чувствительности к ишемическому воздействию.

Таким образом, изучение регионарных закономерностей изменения содержания АТФ-синтазы при экспериментальной ишемии актуально и может способствовать расширению уже имеющихся представлений о влиянии ишемии на компоненты митохондрий и их

роль в чувствительности популяций нейронов различных отделов мозга.

Цель исследования – выявить закономерности изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах различных отделов мозга крысы при субтотальной ишемии разной длительности.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 12 беспородных белых крысах-самцах линии Вистар массой 220–250 граммов (контрольная группа – $n=4$, 30 минут субтотальной ишемии – $n=4$, 3 часа субтотальной ишемии – $n=4$). Животных содержали в стандартных условиях вивария на полноценном рационе. Соблюдались все требования директивы Европейского парламента и Европейского совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся для научных целей [2]. На данное исследование получено разрешение комитета по биоэтической этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 15.01.2020).

Моделирование субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) осуществлялось путем перевязки обеих общих сонных артерий в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40–50 мг/кг). Контрольным животным проводили ложную операцию без перевязки общих сонных артерий. Забор головного мозга крыс опытных и контрольной групп осуществлялся через 30 минут и через 3 часа после операции.

Крыс выводили из эксперимента путем декапитации, извлекали головной мозг и делили на три части фронтальными разрезами. Для фиксации использовали комбинированный фиксатор – цинк-этанол-формальдегид [3], образцы выдерживали при температуре $+4^\circ\text{C}$ в течение 20 часов, затем обезвоживали

в спиртах, просветляли в ксилолах и заключали в парафин. Серийные срезы толщиной 5 мкм изготавливали через каждые 500 мкм с использованием микротомы Leica 2125 RTS (Leica Microsystems, Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла.

Один срез из каждой серии окрашивали по методу Ниссля для идентификации структур мозга по атласу [4], другой окрашивали иммуногистохимически для выявления содержания АТФ-синтазы. Применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-АТР5А antibody (ab14748, Abcam, Великобритания) в оптимальном разведении 1:2400, экспозиция 20 часов, при температуре +4°C во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB IHC Detection Kit – Micro-polymer (ab236466, Abcam, Великобритания).

В качестве положительного контроля выступали ткани с известным высоким содержанием АТФ-синтазы. Отрицательным контролем служили срезы, которые вместо первичных антител обрабатывали нормальной кроличьей сывороткой (иммунопозитивное окрашивание в них отсутствовало). Дополнительным внутренним отрицательным контролем служили оболочки мозга и ядра нейронов.

Изучение препаратов, микрофотографирование и цитофотометрию в структурах мозга проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems, Германия) и программы компью-

терного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Изучено 25 отделов, областей мозга, слоев коры и ядер (скоплений нейронов) мозга. Иммунореактивность АТФ-синтазы выражали в единицах оптической плотности $\times 10^3$.

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США; серийный номер 31415926535897). Результаты цитофотометрии представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – нижняя граница верхнего квартиля. Для сравнения контрольной и опытных групп использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни [5]. Различия между группами считались статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$).

Результаты

Иммунореактивность АТФ-синтазы выявлена в цитоплазме тел нейронов и их отростков в виде зернистости, хорошо визуализирующейся при большом увеличении в виде скоплений окрашенных диаминобензидином продуктов иммуногистохимической реакции. Ядра нейронов остались неокрашенными.

Цитоплазма большинства нейронов у животных опытных групп тоже обладала окрашенной зернистостью, однако менее выраженной по сравнению с цитоплазмой нейронов в контрольной группе. В зависимости от длительности СИГМ появились нейроны с плохо визуализирующейся областью ядра и крайне

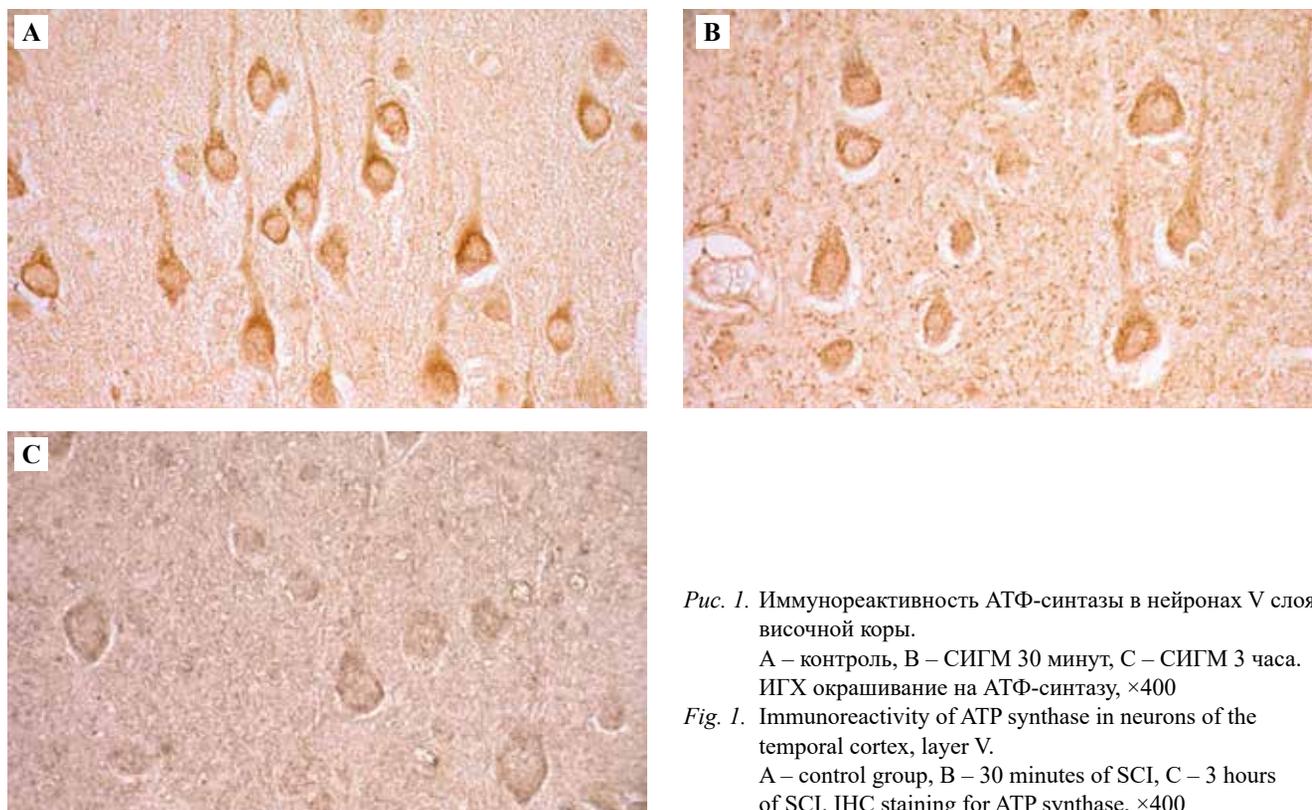


Рис. 1. Иммунореактивность АТФ-синтазы в нейронах V слоя височной коры.

А – контроль, В – СИГМ 30 минут, С – СИГМ 3 часа. ИГХ окрашивание на АТФ-синтазу, $\times 400$

Fig. 1. Immunoreactivity of ATP synthase in neurons of the temporal cortex, layer V.

А – control group, В – 30 minutes of SCI, С – 3 hours of SCI. IHC staining for ATP synthase, $\times 400$

слабо окрашенные нейроны (окрашены так же или слабее, чем окружающий нейропилль) (рис. 1 С).

Наибольшие изменения иммунореактивности АТФ-синтазы обнаружены в нейронах височной и ретросплениальной агранулярной коры конечного мозга.

Весьма резкое снижение иммунореактивности – на 30–50% – наблюдали во всех исследованных слоях коры мозга (III, V, VI) уже после 30-минутной СИГМ (табл., рис. 1). После 3-часовой СИГМ иммунореактивность несколько повышалась в сравнении с пре-

Таблица | Table

**Изменение иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах мозга крысы ($\times 10^3$ единиц оптической плотности) |
ATP synthase immunoreactivity in murine brain neurons ($\times 10^3$ optical density units)**

Структура Structure	Содержание АТФ-синтазы, Me (LQ; UQ) Content of ATP synthase, Me (LQ; UQ)		
	контрольная группа control group	30 минут СИГМ 30 minutes of subtotal cerebral ischemia	3 часа СИГМ 3 hours of subtotal cerebral ischemia
Конечный мозг Telencephalon			
Митральные клетки обонятельной луковицы Mitral cells of the olfactory bulb	188,4 (146,9; 212,7)	284,1 (252,6; 309,5) *(p=0,00)	194,1 (171,2; 226,9) *(p=0,3) **(p=0,0000)
Пириформная кора, II слой Piriform cortex, layer II	306,2 (241,6; 384,3)	243,1 (214,9; 270,5) *(p=0,0002)	213,0 (191,1; 237,0) *(p=0,00) **(p=0,006)
Гиппокамп СА1, II слой Hippocampus CA1, layer II	275,0 (229,7; 316,3)	248,8 (208,4; 280,7) *(p=0,044)	235,3 (206,5; 255,5) *(p=0,0022) **(p=0,29)
Гиппокамп СА2, II слой Hippocampus CA2, layer II	298,2 (265,3; 339,0)	321,1 (270,8; 382,0) *(p=0,21)	281,9 (234,3; 312,6) *(p=0,024) **(p=0,003)
Гиппокамп СА3, II слой Hippocampus CA3, layer II	294,5 (270,6; 341,2)	246,8 (207,6; 283,9) *(p=0,00)	205,9 (176,0; 238,0) *(p=0,00) **(p=0,002)
Зубчатая извилина, II слой Dentate gyrus, layer II	284,9 (250,8; 340,3)	230,1 (187,7; 307,2) *(p=0,001)	178,5 (160,5; 199,6) *(p=0,00) **(p=0,00)
Ретросплениальная агранулярная кора, II слой Retrosplenial agranular cortex, layer II	290,8 (261,7; 327,8)	191,6 (159,2; 242,9) *(p=0,00)	196,9 (157,2; 232,5) *(p=0,00) **(p=0,94)
Ретросплениальная агранулярная кора, V слой Retrosplenial agranular cortex, layer V	269,7 (250,1; 314,7)	182,7 (141,8; 224,8) *(p=0,00)	227,7 (206,6; 287,6) *(p=0,00) **(p=0,00)
Ретросплениальная агранулярная кора, VI слой Retrosplenial agranular cortex, layer VI	287,4 (250,1; 308,0)	149,7 (131,1; 258,4) *(p=0,00)	219,6 (186,1; 273,4) *(p=0,00) **(p=0,00)
Височная кора, III слой Temporal cortex, layer III	294,6 (249,7; 313,7)	165,7 (89,9; 190,0) *(p=0,00)	202,7 (183,5; 231,7) *(p=0,00) **(p=0,00)
Височная кора, V слой Temporal cortex, layer V	314,6 (275,0; 335,4)	194,8 (126,7; 245,0) *(p=0,00)	195,0 (170,6; 240,3) *(p=0,00) **(p=0,39)
Височная кора, VI слой Temporal cortex, layer VI	283,7 (246,1; 344,3)	198,7 (164,7; 261,5) *(p=0,00)	198,8 (180,9; 241,7) *(p=0,00) **(p=0,64)

Структура Structure	Содержание АТФ-синтазы, Ме (LQ; UQ) Content of ATP synthase, Me (LQ; UQ)		
	контрольная группа control group	30 минут СИГМ 30 minutes of subtotal cerebral ischemia	3 часа СИГМ 3 hours of subtotal cerebral ischemia
Промежуточный мозг Diencephalon			
Задняя группа ядер таламуса Posterior thalamic nuclear group	255,9 (218,2; 303,0)	221,3 (190,9; 234,5) *(p=0,00)	257,4 (236,6; 286,6) *(p=0,55) **(p=0,00)
Медиальное маммиллярное ядро Medial mammilar nucleus	333,4 (314,7; 360,9)	347,0 (292,4; 387,8) *(p=0,94)	297,2 (269,5; 341,0) *(p=0,003) **(p=0,021)
Медиальное габенулярное ядро таламуса Medial habenula of the thalamus	342,8 (283,0; 381,8)	256,0 (192,4; 289,7) *(p=0,00)	207,0 (170,0; 232,5) *(p=0,00) **(p=0,001)
Гистаминергическое ядро E2 Histaminergic nucleus E2	360,7 (315,8; 425,1)	327,0 (276,2; 370,0) *(p=0,01)	252,7 (218,2; 294,1) *(p=0,000) **(p=0,000)
Средний и продолговатый мозг Mesencephalon and medulla oblongata			
Верхняя область покрывки Ventral tegmental area	271,3 (236,6; 292,4)	255,7 (206,8; 318,0) *(p=0,68)	267,3 (239,0; 302,8) *(p=0,96) **(p=0,73)
Черная субстанция, компактное вещество Substantia nigra, pars compacta	327,0 (298,2; 349,2)	251,1 (208,1; 304,4) *(p=0,00)	293,4 (270,3; 337,5) *(p=0,007) **(p=0,002)
Латеральное ретикулярное ядро Lateral reticular nucleus	306,1 (235,3; 355,6)	279,9 (117,6; 324,3) *(p=0,12)	315,9 (273,2; 328,2) *(p=0,6) **(p=0,049)
Спинальное ядро тройничного нерва Spinal trigeminal nucleus	332,4 (282,3; 365,1)	303,8 (270,9; 345,2) *(p=0,18)	310,3 (277,6; 377,9) *(p=0,81) **(p=0,2)
Гигантоцеллюлярное ядро Gigantocellular nucleus	340,5 (305,2; 381,0)	366,6 (327,5; 431,5) *(p=0,04)	309,2 (288,8; 350,3) *(p=0,1) **(p=0,001)
Мозжечок Cerebellum			
Простая долька, клетки Пуркинье Simple lobule, Purkinje cells	231,7 (219,1; 243,4)	247,0 (216,4; 279,4) *(p=0,09)	248,0 (234,6; 263,5) *(p=0,033) **(p=0,99)
Околочлочок, клетки Пуркинье Parafloccus, Purkinje cells	270,3 (246,7; 296,9)	280,8 (259,6; 317,0) *(p=0,19)	220,0 (184,5; 245,9) *(p=0,00) **(p=0,00)
Латеральное ядро Lateral nucleus	325,8 (284,6; 395,9)	308,1 (279,2; 345,9) *(p=0,24)	249,7 (198,3; 298,4) *(p=0,0002) **(p=0,0004)
Вставочное ядро Interposed nucleus	348,6 (305,5; 400,2)	324,7 (298,4; 341,7) *(p=0,02)	273,3 (230,8; 329,7) *(p=0,002) **(p=0,04)

* в сравнении с контрольной группой; ** в сравнении с 30 минутами СИГМ

* compared to the control group; ** compared to 30-minute of SCI

дыдущим сроком или оставалась на прежнем уровне, то есть дальнейшее снижение не наблюдалось (табл.).

Пириформная кора, СА1–СА3 поля гиппокампа и зубчатая извилина характеризовались меньшим снижением иммунореактивности АТФ-синтазы после 30-минутной и 3-часовой СИГМ. В разных полях гиппокампа и зубчатой извилине изменения иммунореактивности АТФ-синтазы выражены неодинаково: наибольшее снижение после 30-минутной СИГМ обнаружено в нейронах СА3 поля и зубчатой извилине, и оно продолжается после 3-часовой СИГМ (табл.).

Единственной из исследованных структур конечного мозга (и мозга крысы в целом), в которой после 30-минутной СИГМ наблюдалось резкое возрастание (на 50%) иммунореактивности АТФ-синтазы, являлись митральные клетки обонятельной луковицы. После 3-часовой СИГМ она снижалась до значений контрольной группы (табл.).

В нейронах ядер промежуточного мозга скорость и характер изменений иммунореактивности АТФ-синтазы различались. Выделялись нейроны задней группы ядер таламуса, в которых наблюдалось снижение, а затем повышение иммунореактивности. В остальных исследованных ядрах через 3 часа СИГМ

содержание АТФ-синтазы снижалось еще больше, чем через 30 минут.

В нейронах структур ствола изменения иммунореактивности носили наиболее медленный и менее выраженный характер. В их ядрах не выявлено резкого снижения или увеличения иммунореактивности (изменения преимущественно находятся в пределах $\pm 10\%$) как после 30-минутной, так и после 3-часовой СИГМ, а в некоторых их структурах (вентральная область покрывки и спинальное ядро тройничного нерва) изменения уровня иммунореактивности вовсе были статистически незначимы. Примечательно то, что даже в случае сравнительно сильного падения значений иммунореактивности АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ (например, в компактном веществе черной субстанции) после 3-часовой СИГМ происходило не снижение, а повышение иммунореактивности (рис. 2).

В нейронах ядер мозжечка и клеток Пуркинье коры мозжечка изменения иммунореактивности АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ почти не происходили. После 3-часовой СИГМ иммунореактивность в нейронах ядер снижалась на 15–20% в сравнении с контролем (рис. 3), а в клетках Пуркинье разных участков коры мозжечка отмечалось выраженное снижение иммунореактивности АТФ-синтазы только через 3 часа СИГМ.

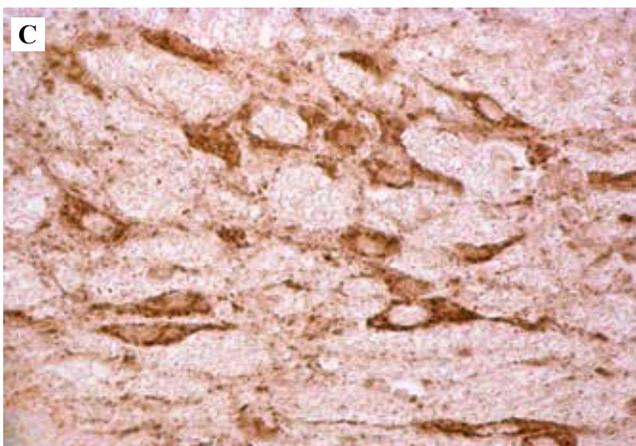
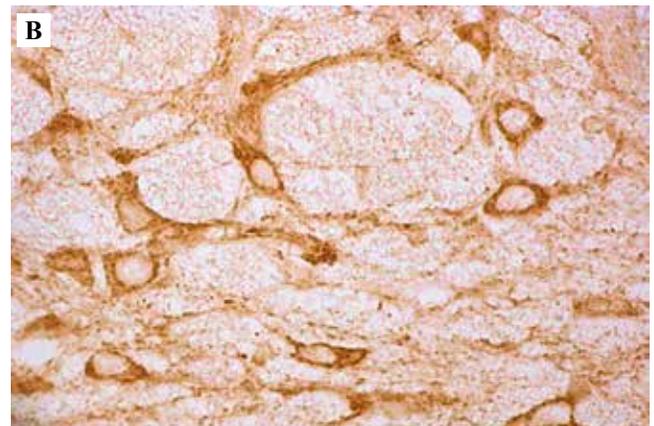
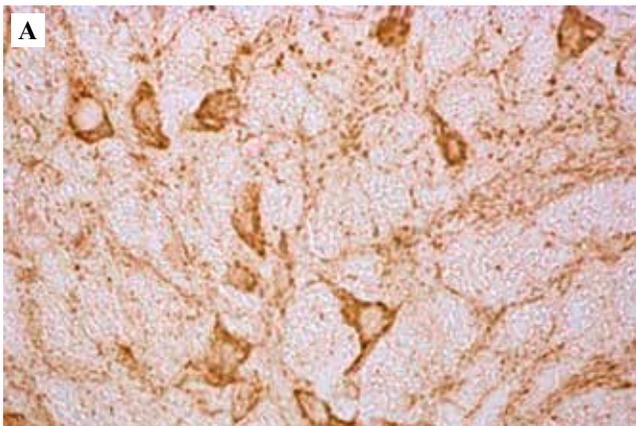


Рис. 2. Иммунореактивность АТФ-синтазы в нейронах компактного вещества черной субстанции. А – контроль, В – СИГМ 30 минут, С – СИГМ 3 часа. Иммуногистохимическое окрашивание на АТФ-синтазу, $\times 400$

Fig. 2. Immunoreactivity of ATP synthase in neurons of the substantia nigra pars compacta. А – control group, В – 30 minutes of SCI, С – 3 hours of SCI. IHC staining for ATP synthase, $\times 400$

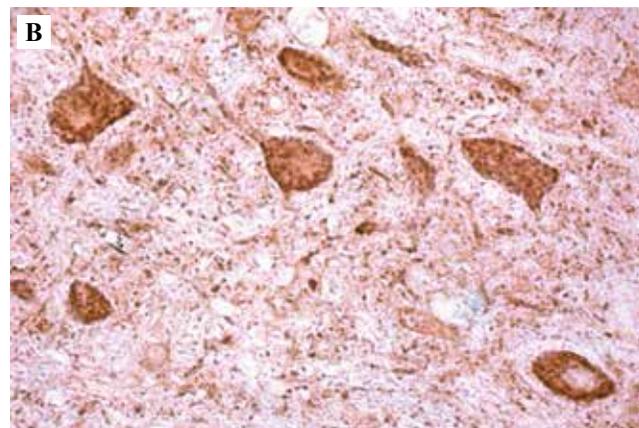
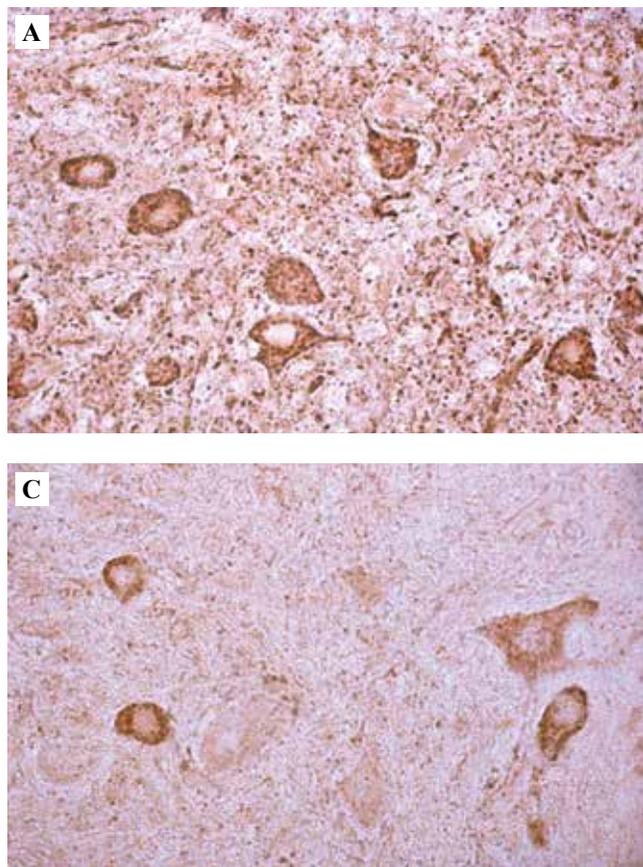


Рис. 3. Иммунореактивность АТФ-синтазы в нейронах вставочного ядра мозжечка.
А – контроль, В – СИГМ 30 минут, С – СИГМ 3 часа.
Иммуногистохимическое окрашивание на АТФ-синтазу, $\times 400$

Fig. 3. Immunoreactivity of ATP synthase in neurons of interposed nucleus of the cerebellum.
А – control group, В – 30 minutes of SCI, С – 3 hours of SCI. IHC staining for ATP synthase, $\times 400$

Обсуждение

Результаты измерения иммунореактивности АТФ-синтазы структур контрольной группы отвечают ранее установленным закономерностям [6], а наблюдаемая зернистость цитоплазмы нейронов соответствует общепринятым представлениям о расположении митохондрий в цитоплазме тел нейронов и их отростках.

Снижение зернистости цитоплазмы, наблюдаемое в опытных группах, и соответствующее низкое содержание АТФ-синтазы в этих нейронах, вероятно, свидетельствуют и об изменении в структуре митохондрий вследствие диссоциации субъединиц фермента [1]. Поскольку димеры АТФ-синтазы определяют морфологию крист митохондрий [7], значительное снижение содержания АТФ-синтазы может стать причиной изменения структуры крист. Ранее сообщалось о снижении количества крист и изменении их морфологии при ишемии и ишемии/реперфузии в отдельных структурах мозга, в том числе при 30-минутной ишемии головного мозга (ИГМ) [8, 9]. Снижение зернистости вплоть до ее полного исчезновения при 3-часовой ишемии, наблюдаемое нами, может свидетельствовать о прогрессировании деструкции митохондрий.

Полученные данные об изменении содержания АТФ-синтазы в структурах мозга крыс демонстрируют различные степень и скорость снижения содержания АТФ-синтазы при субтотальной ишемии, что может быть следствием как неодинакового кровоснабжения

исследованных отделов, так и избирательной чувствительности отдельных популяций нейронов мозга крысы в пределах отделов, возможно из-за их гетерогенной нейромедиаторной природы и метаболического статуса.

Наиболее значительное и быстрое снижение содержания АТФ-синтазы характерно для структур конечного мозга крысы, на которые приходится наибольшая степень ишемического воздействия в данной экспериментальной модели ишемии. Тем не менее и здесь скорость и степень снижения содержания АТФ-синтазы также разнообразны. Об отличиях в чувствительности разных частей конечного мозга к ИГМ сообщалось ранее [10].

Поля гиппокампа характеризуются разнородными скоростью и степенью изменения иммунореактивности АТФ-синтазы при церебральной ишемии. Наиболее уязвимое к ишемическим повреждениям поле СА1 [11] характеризуется достаточно плавным снижением иммунореактивности. В то же время относительно устойчивое к ишемическим повреждениям поле СА3 [11] и зубчатая извилина теряют иммунореактивность АТФ-синтазы в несколько большей степени и быстрее, а наименее чувствительным по степени снижения иммунореактивности является поле СА2.

И среди структур конечного мозга, и среди других исследованных структур мозга крысы особенно выделяются характер и скорость изменения иммунореактивности АТФ-синтазы митральных клеток обонятельных луковиц. Столь резкое возрастание иммунореактив-

ности АТФ-синтазы примечательно в свете сравнительно слабой развитости энергетического аппарата митральных клеток в норме [6] и особого характера их функционирования – ритмической работы [12].

Характер изменения содержания АТФ-синтазы в нейронах структур промежуточного мозга разнообразен. Избирательная чувствительность нейронов таламуса и гипоталамуса к ИГМ описывалась в литературе, однако динамика АТФ-синтазы этих нейронов не была освещена. Несмотря на то, что таламус интенсивно кровоснабжается вследствие высоких метаболических потребностей и имеет хорошо развитую сеть коллатералей, характер изменений в его структурах очень отличается. В задней группе ядер таламуса после длительного ишемического воздействия происходит восстановление уровня иммунореактивности АТФ-синтазы, в то время как в нейронах медиального габенулярного ядра иммунореактивность падает на протяжении всех сроков воздействия.

Для гистаминергических нейронов гипоталамуса (ядро E2) устойчивость АТФ-синтазы к ишемическому воздействию не выявлена. Из литературы известно, что в нейронах данного ядра после 30-минутной ишемии не только преобладают изменения, указывающие на активацию синтетических процессов, но уже наблюдаются признаки деструкции ультраструктур [8], что вполне может соответствовать 9% снижению количества АТФ-синтазы после 30-минутной СИГМ.

Полученные данные по изменению иммунореактивности АТФ-синтазы в нейронах среднего и продолговатого мозга указывают на меньшую подверженность их нейронов изменению содержания АТФ-синтазы при перевязке обеих общих сонных артерий. Возможно, это может быть связано с сохранностью снабжающих их кровеносных сосудов в использованной модели ишемии. 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 большой долей чувствительных к ИГМ дофаминергических нейронов [13] и меньшей митохондриальной массой в этих нейронах в сравнении с другими структурами среднего мозга (в частности, с верхней областью покрышки) [14]. Однако после 3-часовой СИГМ содержание АТФ-синтазы увеличивается в сопоставлении с 30-минутной СИГМ.

В нейронах структур мозжечка иммунореактивность АТФ-синтазы не изменяется при 30-минутной субтотальной ишемии, но уже при 3-часовой СИГМ проявляются изменения: в ядрах зарегистрировано снижение иммунореактивности, в то время как реакция клеток Пуркинью различается в зависимости от участка коры мозжечка.

Заключение

При экспериментальной субтотальной ишемии головного мозга степень и скорость изменения содержа-

ния АТФ-синтазы в структурах головного мозга крысы сильно различаются и зависят от его отдела. Наиболее быстрое и значительное снижение отмечено в структурах конечного мозга – височной, ретроспленальной агранулярной коре, а также в ядрах гипоталамуса, а наименьшее в нейронах продолговатого мозга и мозжечка.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь.

Сбор и обработка материала – Е.В. Узлова, Е.И. Бонь.

Написание текста – Е.В. Узлова.

Редактирование – С.М. Зиматкин, Е.И. Бонь.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – E.V. Uzlova, S.M. Zimatkin, E.I. Bon.

Collected the data and performed the analysis – E.V. Uzlova, E.I. Bon.

Wrote the paper – E.V. Uzlova.

Edited the manuscript – S.M. Zimatkin, E.I. Bon.

Литература/References

1. Mnatsakanyan N, Jonas EA. The new role of F1Fo ATP synthase in mitochondria-mediated neurodegeneration and neuroprotection. *Exp Neurol.* 2020;332:113400. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113400.
2. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and Council of the European Union of 22 Sept 2010 on animal protection, used in the scientific purposes. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26> (accessed 01.04.2022).
3. Д.Э. Коржевский (ред.). Иммуногистохимическое исследование головного мозга. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016. 143 с. DE Korzhevskiy (ed.) Immunohistochemical study of the brain. Saint-Petersburg: SpecLit, 2016. 143 p. (In Russ.).
4. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th. ed. London: Academic Press, 2007. 456 p.
5. Медик В.А., Токмачев М.С. Математическая статистика в медицине. В 2 т. Т. 2: Учебное пособие для вузов. 2-е издание. Москва: Юрайт, 2021. 347 с. *Medik VA, Tokmachev MS. Math statistics in medicine. In 2 volumes. V. 2: Training manual for higher educational institutions, 2nd. ed. Moscow: Urait, 2021. 347 p. (In Russ.).*
6. Узлова Е.В., Зиматкин С.М. АТФ-синтаза в нейронах мозга крысы. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2021;3:17–27. DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-17-27. *Uzlova EV, Zimatkin SM. ATP synthase in rat brain neurons. Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2021;3:17–27 (In Russ.). DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-17-27.
7. Blum TB, Hahn A, Meier T, Davies KM, Kühlbrandt W. Dimers of mitochondrial ATP synthase induce membrane curvature and self-assemble into rows. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019;116(10):4250–5. DOI: 10.1073/pnas.1816556116.
8. Кузнецова В.Б., Криштофик Е.И., Козляковская О.О. Особенности ультраструктуры нейронов гистаминергического ядра E2 гипоталамуса крысы после субтотальной тридцатиминутной ишемии головного мозга и реперфузии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2015;49(1):44–48. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23171735> (получено 01.04.2022).

- Kuzniatsova VB, Kryshchik YeI, Kazliakouskaya VA.* Ultrastructural features of neurons of histaminergic nucleus E2 in rat hypothalamus after subtotal thirty-minute cerebral ischemia and reperfusion. *Journal of Grodno State Medical University.* 2015;49(1):44–48 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=23171735> (accessed 01.04.2022).
9. *Kumar R, Bukowski MJ, Wider JM, Reynolds CA, Calo L, Lepore B et al.* Mitochondrial dynamics following global cerebral ischemia. *Mol Cell Neurosci.* 2016;76:68–75. DOI: 10.1016/j.mcn.2016.08.010.10.
10. *Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Валько Н.А.* Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике субтотальной церебральной ишемии. *Оренбургский медицинский вестник.* 2019;2(26):36–41. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39276827> (получено 01.04.2022).
Bon EI, Maksimovich NY, Zimatkin SM, Valko NA. Morphological disturbances of the parietal cortex and hippocampus neurons in the dynamics of subtotal cerebral ischemia. *Orenburgskij medicinskij vestnik = Orenburg medical herald.* 2019;2(26):36–41 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=39276827> (accessed 01.04.2022).
11. *Schmidt-Kastner R.* Genomic approach to selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia-hypoxia. *Neuroscience.* 2015;309:259–79. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.08.034.
12. *Fourcaud-Trocmé N, Briffaud V, Amat C.* Modeling intracellular silent oscillations and rhythmic discharge in olfactory bulb mitral cells. *BMC Neurosci.* 2013;14(Suppl 1):P8. DOI: 10.1186/1471-2202-14-S1-P8.
13. *Chung CY, Seo H, Sonntag KC, Brooks A, Lin L, Isacson O.* Cell type-specific gene expression of midbrain dopaminergic neurons reveals molecules involved in their vulnerability and protection. *Hum Mol Genet.* 2005;14(13):1709–25. DOI: 10.1093/hmg/ddi178.
14. *Liang CL, Wang TT, Luby-Phelps K, German DC.* Mitochondria mass is low in mouse substantia nigra dopamine neurons: Implications for Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2007;203(2):370–80. DOI: 10.1016/j.expneurol.2006.08.015.

Информация об авторах

Елизавета Валентиновна Узлова – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Сергей Михайлович Зиматкин – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Елизавета Игоревна Бонь – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии имени Д.А. Маслакова Гродненского государственного медицинского университета.

Author information

Elizaveta V. Uzlova – Postgraduate Student, Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-5916-4390>

Sergey M. Zimatkin – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Grodno State Medical University. <https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>

Elizaveta I. Bon – Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, D.A. Maslakov Department of Pathological Physiology, Grodno State Medical University. <https://orcid.org/0000-0002-2380-1586>