

ИШЕМИЯ И ИШЕМИЯ-РЕПЕРФУЗИЯ КАК МОДУЛЯТОР ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БЕЛКА-ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P

Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.В. Шулькин, М.В. Гацанога

*Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,
г. Рязань*

ISCHEMIA AND ISCHEMIA-REPERFUSION AS A MODIFIER OF GLYCOPROTEIN-P CARRIER PROTEIN FUNCTIONING

E.N. Yakusheva, I.V. Chernykh, A.V. Schulkin, M.V. Gatsanoga

I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan

Цель работы: оценить экспрессию белка-транспортера гликопротеина-P (Pgp) в лобной доле коры головного мозга крыс wistar при одно-сторонней окклюзии общей сонной артерии, а также при окклюзии-реперфузии, и проанализировать корреляционную зависимость между экспрессией транспортера и свободно-радикальным статусом ткани мозга.

Материалы и методы исследования: работа выполнена на 90 крысах-самцах wistar массой 250 – 300 г. Животных разделили на 3 группы: 1-я группа – интактные животные (n=6); 2-я группа – животные, которым моделировали ишемию головного мозга; 3-я группа – животные, которым моделировали ишемию головного мозга в течении 30 минут с последующей реперфузией. Крысам 1-й группы выполнялась «ложная» операция со вскрытием и ушиванием кожных покровов, без перевязки сонной артерии.

Животные 2-й группы были разделены на следующие серии: 30 мин, 60 мин, 1,5 ч, 4 ч, 12 ч, 5 суток и 14 суток после окклюзии общей сонной артерии и аналогичные сроки после 30-минутной окклюзии и последующей реперфузии – для 3-й группы (n=6 в каждой группе на каждый срок эксперимента). Окклюзию общей сонной артерии моделировали под эфирным наркозом после вскрытия мягких тканей шеи животных, выделения правой общей сонной артерии путем наложения на нее лигатуры с последующим ушиванием раны. При моделировании окклюзии-реперфузии артерия пережималась сосудистым зажимом в течение 30 минут. Гистологический материал подвергали стандартной иммуногистохимической обработке. В гомогенате коры больших полушарий определяли содержание ТБК-реактивных продуктов, уровень свободных сульфгидрильных (SH) групп, активность глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы. Полученные результаты обрабатывали с помощью программы «StatSoft Statistica 7.0».

Purpose of the work was to estimate the expression of glycoprotein-P (Pgp) in a frontal lobe of brain cortex of Wistar rats in one-side occlusion of common carotid artery, and also the occlusion-reperfusion, and to analyze the correlation dependence between the expression of the carrier and free-radical status of brain tissue.

Materials and methods of the study: we have carried out the work using 90 male Wistar rats weighed 250-300 g. Animals were divided into 3 groups; the 1st group included intact animals (n=6); animals which had a modeled ischemia of the brain belonged to the 2nd group; 3rd group included the animals, which had a modeled ischemia of the brain during 30 minutes with further reperfusion. The rats of the first group were exposed to sham operation with opening and sealing of skin covers without carotid ligation.

The animals of the second group were divided into the following series: 30 min, 60 min, 1.5 hour, 4 hours, 12 hours, 5 days, and 14 days after the occlusion of common carotid artery, and similar terms for 30 minutes occlusion and further reperfusion for the third group (n=6 in every group for every term of the experiment). Occlusion of common carotid artery was modeled under the ether anesthesia after the opening of soft tissues of animals' neck. Isolation of right common carotid artery was carried out by means of ligation with further sealing of a wound. After the modeling of occlusion-reperfusion artery was constricted with a vascular clamp during 30 minutes. Histological material was exposed to the standard immunohistochemical processing. We determined a content of TBA-reactive products, level of free sulfhydryl (SH) groups, activity of glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase. The results obtained were processed with the use of StatSoft Statistica 7.0 program.

Results: we have established that Pgp expression dropped on the 12th occlusion by 59.2% (p<0.05) and augmented by 65.9% (p<0.05) on the 5th day of the experiment. In other periods, the rate

Результаты: установлено, что экспрессия Pgp снижалась на 12-й ч окклюзии на 59,2% ($p < 0,05$) и увеличивалась на 65,9% ($p < 0,05$) на 5-е сутки опыта. В остальные сроки изучаемый показатель от уровня интактных животных не отличался ($p > 0,05$). Односторонняя окклюзия общей сонной артерии с последующей реперфузией приводила к снижению экспрессии Pgp в ткани мозга через 4 и 12 ч после реперфузии на 61,3% и 74,8% ($p < 0,05$) соответственно. В остальные сроки наблюдения изучаемый показатель достоверно от значений интактных животных не отличался ($p > 0,05$). Окклюзия общей сонной артерии, а также окклюзия-реперфузия приводили к развитию выраженного окислительного стресса в ткани коры головного мозга. При проведении корреляционного анализа была выявлена зависимость между экспрессией Pgp в гематоэнцефалическом барьере и активностью антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы в ткани коры головного мозга на протяжении всего исследования ($R_s = 0,352$, $p = 0,024$).

Выводы:

Односторонняя перевязка общей сонной артерии у крыс приводит к развитию окислительного стресса в ткани лобной доли коры, уменьшению экспрессии Pgp через 12 ч от момента окклюзии и к ее увеличению на 5-е сутки эксперимента.

Односторонняя окклюзия общей сонной артерии у крыс с последующей реперфузией сопровождается развитием выраженного окислительного стресса в ткани мозга и снижением экспрессии Pgp через 4 и 12 ч после реперфузии.

Выявлена прямая корреляционная зависимость между экспрессией Pgp и активностью глутатионпероксидазы в пораженной ткани лобных долей коры головного мозга на протяжении всего эксперимента при ишемии и ишемии-реперфузии.

under study did not differ from the intact animals level ($p < 0.05$). One-side occlusion of common carotid artery with following reperfusion led to the Pgp expression reduction in brain tissue 4 and 12 hours after reperfusion on 61.3% and 74.8% ($p < 0.05$) correspondingly. In other period of the observation the rate under study did not differ relevantly from the values of intact animals ($p < 0.05$). Occlusion of common carotid artery, and occlusion-reperfusion led to the development of the signified oxidation stress in brain tissue. While conducting the correlation analysis we have revealed the dependence between Pgp expression in hematoencephalic barrier and activity of antioxidant enzyme glutathione peroxidase in the brain tissue during the whole investigation ($R_s = 0.352$, $p = 0.024$).

Conclusions:

One-side deligation of common carotid artery of rats with further reperfusion is accompanied by the expansion of an oxidation stress in the tissue of the frontal lobe of brain cortex, Pgp expression reduction after 12 hours from the moment of occlusion and its augmentation on the 5th day of an experiment

One-side occlusion of common carotid artery of rats with further reperfusion is accompanied by the expansion of a signified oxidation stress in brain tissue with Pgp expression reduction in 4 and 12 hours after reperfusion.

We have revealed a direct correlation dependence between Pgp expression and activity of glutathione peroxidase in the affected tissue of the frontal lobe of brain cortex.