

УДК 612.83

Иммунофлуоресцентное исследование белков мотонейронов поясничного отдела спинного мозга мышей после моделирования гипогравитации и реадаптации

Петрова Ксения Александровна^{1(*)}ksen_08@bk.ru
SPIN-код: 8251-9440Максимов Денис Максимович²den4.ik-2002@yandex.ru
SPIN-код: 9583-7657Нуруллин Лениз Фаритович^{1,2}leniz2001@mail.ru
SPIN-код: 3346-2366Тяпкина Оксана Викторовна^{1,2}anti-toxin@mail.ru
SPIN-код: 9776-0801¹ КИББ – обособленное структурное подразделение ФГБУН «ФИЦ «КазНЦ РАН», Казань, Россия² ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Россия

Аннотация. Исследовано влияние моделирования гипогравитации с последующей реадаптацией на уровень иммуноэкспрессии белков-маркеров в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга мышей с помощью конфокальной сканирующей микроскопии. По сравнительному анализу результатов настоящего исследования с данными полученными после космического полета на биоспутнике БИОН-М1 сделан вывод о схожести некоторых реакций мотонейронов на космический полет и моделирование его эффектов на Земле.

Ключевые слова: гипогравитационный двигательный синдром, иммунофлуоресценция, мотонейроны, спинной мозг, антиортостатическое вывешивание

Введение. Условия космического полета запускают развитие гипогравитационного двигательного синдрома (ГДС). Ранее показано изменение экспрессии белков-маркеров в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга мышей после 30 суток космического полета [1] и 7 суток реадаптации [2]. Моделирование эффектов гипогравитации на Земле воспроизводится с помощью антиортостатического вывешивания задних конечностей (АОВ) грызунов [3]. Целью работы — иммунофлуоресцентное исследование уровня экспрессии синаптофизина, PSD95, Hsp25, Hsp70, VEGF и Flt-1 в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга мышей после 30 суток АОВ и 7 суток реадаптации.

Методы и материалы; результаты. Эксперименты выполнены на мышах самцах линии c57black/6 (6–8 месяцев, масса $25,1 \pm 3,2$ г, по 5 шт. в группе) контрольной группы, групп после 30 суток АОВ и 7 суток реадаптации. Поперечные срезы поясничного отдела спинного мозга окрашивали первичными антителами к исследуемым белкам и вторичными антителами, конъюгированными с флуорохромом Alexa488. Изображения микропрепаратов получали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 (Германия) и анализировали в программе ImageJ 1.5 (NIH, США).

Окрашивание антителами к синаптофизину показало уменьшение интенсивности флуоресценции после 30 суток АОВ, а после 7 суток реадаптации восстановление до контрольных значений. Использование антител к PSD95 показало схожий результат, но при реадаптации восстановления не произошло. При оценке уровня иммуноэкспрессии Hsp25 и Hsp70 интенсивность флуоресценции увеличивалась, при этом реадаптация увеличила показатель в первом случае и уменьшила во втором. Окрашивание антителами к VEGF показало отсутствие изменений в группе АОВ по сравнению с контролем, но реадаптация приводила к увеличению интенсивности флуоресценции. Использование антител к Flt-1 показало уменьшение флуоресценции после АОВ, не изменяющееся после реадаптации.

Закключение. Выявленное уменьшение экспрессии синаптических белков в мотонейронах спинного мозга мышей после 30 суток АОВ согласуется с реакцией на космический полет. Однако при процессе реадаптации восстановления уровня иммуноэкспрессии после космического полета не происходит. Эффекты космического полета, АОВ и реадаптации на экспрессию белков теплового шока носят противонаправленный характер. Уровень экспрессии VEGF не изменяется в обоих случаях, а Flt-1 уменьшается после АОВ. При этом реадаптация приводит к увеличению экспрессии VEGF и снижению Flt-1 в обоих случаях. Таким образом, некоторые реакции мотонейронов на космический полет совпадают с реакциями, развивающимися в экспериментах на Земле.

Список источников

- [1] Тяпкина О.В., Резвяков П.Н., Нуруллин Л.Ф., Петров К.А., Никольский Е.Е., Исламов Р.Р. Иммуногистохимическое исследование мотонейронов поясничного отдела спинного мозга мышей после 30-суточного космического полета на биоспутнике БИОН-М1. *Гены и клетки*, 2014, т. 9, № 3, с. 263–266.
- [2] Тяпкина О.В., Резвяков П.Н., Нуруллин Л.Ф., Петров К.А., Никольский Е.Е., Исламов Р.Р. Иммуногистохимическое исследование реакции мотонейронов поясничного отдела спинного мозга мышей, находившихся в 30-суточном полете на биоспутнике БИОН-М1, на недельную реадаптацию к условиям земной гравитации. *Гены и клетки*, 2016, т. 11, № 3, с. 1–4.
- [3] Morey-Holton E.R., Globus R.K. Hindlimb unloading rodent model: technical aspects. *J. Appl. Physio*, 2002, vol. 92 (4), pp. 1367–1377.