

Жеребятъев А.С., Камышный А.М., Камышная В.А.

ЭКСПРЕССИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ FOXP3 И ROR γ T ПРИ ОСТРОМ ИЛЕИТЕ У КРЫС

Резюме. В эксперименте изучалось влияние острого илеита на интенсивность экспрессии транскрипционных факторов Foxp3 и ROR γ t лимфоцитами тонкого кишечника. Для определения Foxp3⁺ и ROR γ t⁺-клеток был применен метод непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител. Установлено, что развитие илеита сопровождалось уменьшением количества иммунопозитивных лимфоцитов и влияло на концентрацию транскрипционных факторов в лимфоцитах.

Ключевые слова: экспериментальный илеит, воспалительные заболевания кишечника, Th17, регуляторные T-клетки.

Zherebiatiev A.S., Kamyshnyi A.M., Kamyshnaia V.A.

THE EXPRESSION OF THE TRANSCRIPTION FACTORS FOXP3 AND ROR γ T IN RATS WITH ACUTE ILEITIS

Summary. We studied the effect of acute ileitis on expression intensity of the transcription factor Forkhead box p3 (Foxp3) and the transcription factor retinoic acid-related orphan receptor- γ t (ROR- γ t), with lymphocytes of small intestine. The Foxp3⁺ and ROR γ t⁺-cells were determined using an indirect immunofluorescence technique with using a monoclonal antibody. We established that development of ileitis was accompanied with the decrease of amount of the immunopositive lymphocytes and it influenced concentration of the transcription factors in lymphocytes.

Key words: experimental ileitis, inflammatory bowel disease, Th17, regulatory T cells.

Стаття надійшла до редакції 15.04.2014 р.

Жеребятъев Александр Сергійович - ст. лаборант кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 096 795-99-37; Gerya2009@yandex.ru

Камышный Александр Михайлович - д. мед. н., доцент, зав. кафедри мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету; +38 066 926-63-08; alexkamyshny@yandex.ru

Камышная Виктория Анатоліївна - к. мед. н., ст. викладач кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету; +38 066 926-63-08; alexkamyshny@yandex.ru

© Корсак А.В., Чайковський Ю.Б., Чухрай С.М., Ритікова Н.В., Маринський Г.С., Чернець О.В., Лопаткіна К.Г., Васильченко В.А., Сидоренко Д.Ф., Буряк Ю.З., Сердюк В.К.

УДК: (616-091+591.8):616-001:616-72

Корсак А.В., Чайковський Ю.Б., Чухрай С.М., Ритікова Н.В., Маринський Г.С.*, Чернець О.В.*, Лопаткіна К.Г.*, Васильченко В.А.*, Сидоренко Д.Ф.*, Буряк Ю.З.*, Сердюк В.К.*

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра гістології та ембріології (бульв. Т. Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601), *Інститут електрозварювання імені Є.О. Патона (вул. Горького, 66, м. Київ, Україна, 01601)

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА МІКРООТОЧЕННЯ НЕЙРОЦИТІВ РУХОВОГО ЦЕНТРУ ТРАВМОВАНОГО СІДНИЧОГО НЕРВУ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ВИСОКОЧАСТОТНОЇ-ЕЛЕКТРОЗВАРЮВАЛЬНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ

Резюме. Розроблена нова експериментальна модель з'єднання тканин в ділянці травми периферійного нерва методом електрозварювання. Був застосований електронномікроскопічний та імуногістохімічний метод дослідження, які дозволили вивчити картину змін мікрооточення нейронів рухового сегментарного центру травмованого сідничого нерва та мікрооточення нейронів рухового центру травмованого сідничого нерва за умов впливу високочастотної - зварювальної технології (ВЧ - зварювальної) на 1-му та 6-му тижнях після пошкодження. На 6-му тижні після пошкодження нерва у його руховому сегментарному центрі відбувається активація мікрооточення, яка виражена менше у тварин, оперованих за новою методикою, що свідчить про позитивний вплив ВЧ-зварювальної технології на регенерацію.

Ключові слова: мікрооточення, руховий центр, периферійний нерв.

Вступ

Стан та взаємовідношення клітинних популяцій сегментарних центрів впливає на перебіг відновних процесів в периферійних нервах при їх патології, у тому числі і при травматичному пошкодженні [Челышев и др., 2000] Тому актуальним є аналіз змін мікрооточення нейроцитів в руховому сегментарному центрі при використанні нових методик оперативного втручання на травмованих нервових стовбурах [Aldskogius et al., 1998]. На сучасному рівні широко під час хірургічного лікування застосовується високочастотні електрозварювальні технології, але вплив їх на нервову тканину до

цього часу не визначено [Dagtekin et al., 2011]. Нами було розроблено нову методику оперативного лікування травматичного ушкодження периферійного нерва за умов застосування вищевказаної технології.

Для більш глибокого аналізу результатів динаміки змін мікрооточення нейроцитів рухового сегментарного центру за умов впливу ВЧ-електрозварювального приладу доцільно порівняти з класичними гістологічними методами використовувати електронну мікроскопію та імуногістохімію, що може дозволити удосконалити операції на нервових стовбурах та підвищити ефективність

лікування пацієнтів відповідного профілю.

Метою нашого дослідження було вивчення змін мікрооточення нейроцитів рухового сегментарного центру під час процесу регенерації травмованого сідничного нерва за умов впливу ВЧ - електрозварювальної технології.

Матеріали та методи

Вивчення процесів регенерації ушкодженого периферійного нерва за умов впливу високочастотного електрохірургічного інструменту проводили на білих щурах - самцях, вагою 150 - 200 г. Експериментальні тварини були розподілені на 3 групи: I група - щури, яким була відтворена стандартна травма периферійного нерва з відновленням його цілісності за допомогою епіневральних швів; II група - щури, яким була відтворена стандартна травма периферійного нерва з відновленням його цілісності за умов впливу високочастотної-електрозварювальної технології (ВЧ - технології); III група - псевдооперовані щури (контроль).

Усі оперативні втручання проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Використовували тіопенталовий наркоз.

Тваринам I групи була відтворена стандартна модель травми периферійного нерва загальноприйнятим способом з наступним відновленням його цілісності за допомогою епіневральних швів атравматичною голкою, ниткою ПДС 7/0. Тваринам II групи була відтворена стандартна модель травми периферійного нерва загальноприйнятим способом, після чого з метою герметичності епіневрію в місці прилягання центрального та периферійного відрізків травмованого нерва по колу проводили з'єднання ушкодженого епіневрію в режимі зварювання живих тканин за допомогою спеціально розробленого робочого біполярного інструменту для ВЧ - електрозварювального приладу у вигляді пінцета. З цієї мети використовувався прилад ЕКВЗ - 300 "ПАТОН-МЕД", який дозволяє проводити зварювання м'яких тканин організму струмом високої частоти. Тваринам III групи було відтворено доступ до сідничного нерва, проведена його мобілізація, маніпуляції не проводились, після чого здійснено пошаровий шов рани.

Матеріалом для дослідження були сегментарні центри сідничного нерва, а саме передні роги попереково-крижового відділу спинного мозку через 1,6 тижні після операції. Перед забором матеріалу тваринам застосовувався ефірний наркоз. Електронномікроскопічне дослідження виконували за загальноприйнятою методикою.

Було використано, також, імуногістохімічний метод з використанням моноклональних антитіл, за допомогою яких ідентифікували клітини макроглії (олігодендроцити та астроцити) (S-100, LabVision). Серед морфологічних показників оцінювалась експресія S-100 шляхом кількісного та якісного аналізу. Кількісну оцінку експресії маркера проводили шляхом визначення оптич-

ної щільності за допомогою системи аналізу зображення з використанням програми ImageJ ver. 1.45 (National Institutes of Health, USA).

Достовірність відмінності результатів оцінювали за допомогою непараметричного U критерію Манна-Уїтні ("Statistica 10.0").

Результати. Обговорення

При електронно-мікроскопічному дослідженні рухового сегментарного центру сідничного нерва, що розташований в передніх рогах попереково-крижового відділу спинного мозку у псевдооперованих тварин (контроль) тіла нейронів не мають тісного зв'язку з клітинами макроглії. Кількість клітин олігодендроцитів та астроцитів помірна, відрости їх не розгалужені, поодинокі, не мають контакту з сусідніми клітинами макроглії.

За даними імуногістохімічного аналізу препаратів контрольної групи псевдооперованих тварин в руховому сегментарному центрі периферійного нерва спостерігається помірний рівень експресії S-100. Кальцій - зв'язуючий білок S-100 експресується двома видами клітин нейроглії, а саме олігодендроцитами та астроцитами одночасно. Олігодендроцити, які є найчисельнішими клітинами нейроглії у нормі, в цій групі тварин експресують S-100 на достатньому рівні, у зв'язку з цим, інтенсивність кольору препаратів контролю помірна.

При електронномікроскопічному дослідженні рухового сегментарного центра сідничного нерва за умов стандартної травми нервового стовбура та епіневрального шва (1 група) у термін 1 тиждень після операції встановлено значні чіткі реактивні зміни більшості перикаріонів та клітин нейроглії спинного мозку, які яскраво помітні на тлі практично незмінених.

У переважної кількості нейронів, цієї групи тварин, які зазнали реактивних змін відмічено наявність значного центрального хроматолізу та зменшення розміру тіла клітини, що пов'язано з ушкодженням аксона. Олігодендроцити, що розташовані навколо змінених нейронів, теж виглядають виснаженими, або поєднують ознаки активації та виснаження. Клітини нейроглії утворюють більш тісний зв'язок з перикаріонами, що мають ознаки значного хроматолізу у вигляді глибоких інвагінацій та контактів у вигляді щілин. Такі олігодендроцити реалізують компенсаторно-приспосувальну реакцію, що проявляється наявністю ознак активації та виснаження у вигляді розширення залишків цистерн ендоплазматичної сітки, присутності вільних рибосом та розширенням апарату Гольджі, збільшенням мітохондрій та вкороченням їх крист. Інші клітини макроглії мають або ознаки подразнення, або виснаження.

У тварин 1ї експериментальної групи, за даними імуногістохімії в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерва на 1 тиждень післяопераційного періоду знижена кількість імунопозитивних клітин нейроглії та інтенсивність кольору менш насичена у порівнянні з контролем.

При електронномікроскопічному дослідженні рухового сегментарного центра сідничного нерва за умов стандартної травми нервового стовбура та застосування ВЧ - електрозварювальної технології у термін 1 тиждень після операції спостерігаються помірні реактивні зміни перикаріонів та клітин нейроглії спинного мозку.

Олігодендроцити, що розташовані навколо нейронів, з помірно вираженим хроматолізом, також мають менш виражені ознаки виснаження, та активації на відміну від 1 групи тварин в цей термін. Цитоплазма таких клітин нейроглії просвітлена, кількість органел зменшена, але структурна організація останніх практично не пошкоджена, зв'язок з перикаріонами менш тісний.

У тварин 2 експериментальної групи, за даними імуногістохімії в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву на 1 тиждень післяопераційного періоду, також знижена кількість імунопозитивних клітин нейроглії та інтенсивність кольору менш насичена у порівнянні з контролем, але менш виражена ніж у 1 групи, що може бути пов'язано із меншою кількістю нейронів з ознаками значного хроматолізу, які потребують підтримки клітин нейроглії.

При електронномікроскопічному дослідженні рухового сегментарного центра сідничного нерва за умов стандартної травми нервового стовбура та епіневрального шва (1 група) у термін 6 тижнів після операції спостерігаються зміни багатьох перикаріонів та клітин нейроглії спинного мозку, які пов'язані з їх яскраво вираженою активацією, але присутні, також, у меншому ступені, тіла нейронів з ознаками виснаження.

У нейронах, з ознаками активації відмічено наявність відновлення хроматофільної субстанції та збільшення розміру тіла клітини, що пов'язано з проростанням аксонів скрізь ділянку травми. Кількість клітин олігодендроцитів у цей період значно підвищена, вони зберігають тісний зв'язок з нейронами. Поверхня притиснення відростків олігодендроцитів до нейронів залишається звислою, утворює багато глибоких інвагінацій та контактів у вигляді щілин. Вільні відростки олігодендроцитів розгалужуються та прямують до сусідніх клітин нейроглії. У цитоплазмі таких клітин виявляються, як і у нейронів, ознаки активації у вигляді наявності розвинутої гранулярної ендоплазматичної сітки, кількість цистерн якої підвищена, а між цистернами розташовані вільні рибосоми. Мітохондрії збільшені у розмірах, система крист розвинена. Біля ділянок контакту та іноді вільно лежать електроннопрозорі пухирці.

У тварин 1 експериментальної групи, за даними імуногістохімії в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву на 6 тижнів післяопераційного періоду підвищена кількість імунопозитивних клітин нейроглії та інтенсивність кольору більш насичена у порівнянні з контролем.

При електронномікроскопічному дослідженні рухового сегментарного центра сідничного нерва за умов стандартної травми нервового стовбура та застосування

ВЧ - електрозварювальної технології (2 група) у термін 6 тижнів після операції також спостерігаються зміни перикаріонів та клітин нейроглії спинного мозку, які пов'язані з їх активацією, але виражені вони значно менше ніж у тварин 1 групи в цей термін, що пов'язано з проростанням аксонів скрізь ділянку травми без значних перешкод. У таких нейронах теж відмічено наявність відновлення хроматофільної субстанції та збільшення розміру тіла клітини, але структурна перебудова їх помірна.

Кількість клітин олігодендроцитів у цей період підвищена як і у тварин 1 групи, але вони не мають вираженого тісного зв'язку з нейронами. Поверхня притиснення відростків олігодендроцитів до нейронів значно менше ніж у 1 групи тварин, інвагінації виражені слабше, контакти у вигляді щілин мінімальні. Вільні відростки олігодендроцитів розгалужуються менше та теж прямують до сусідніх клітин нейроглії. У цитоплазмі таких клітин виявляються ознаки активації у вигляді наявності розвинутої гранулярної ендоплазматичної сітки та вільних рибосом, збільшених мітохондрій з вираженими кристами.

У тварин 2 експериментальної групи, за даними імуногістохімії в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву на 6 тижнів післяопераційного періоду підвищена кількість імунопозитивних клітин нейроглії та інтенсивність кольору більш насичена у порівнянні з контролем, та менш виражена, ніж у тварин 1 групи в цей термін, що теж можна пояснити наявністю менших перешкод для проростання аксонів через ділянку травми в цій групі тварин.

За даними морфометричного аналізу препаратів рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву обох експериментальних груп тварин S-100 експресується в олігодендроцитах та астроцитах з різним ступенем інтенсивності; інтенсивність експресії залежить від терміну післяопераційного періоду. В обох експериментальних групах тварин 1 тиждень післяопераційного періоду характеризується зниженням рівня S-100 в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву на 12,35% ($p < 0,05$) у 2 групі тварин та на 6,61% ($p < 0,05$) у 1 групі відповідно, у порівнянні з контролем. У тварин обох експериментальних груп 6 тижнів характеризувався вираженою позитивною динамікою рівня експресії S-100 в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву, де зафіксовано підвищення показників на 18,24% ($p < 0,05$) у 2 групі тварин та на 30,86% ($p < 0,05$) у 1 групі відповідно, у порівнянні з контролем; крім того, ми спостерігали ріст показника на 6 тижнів післяопераційного періоду на 34,90% ($p < 0,05$) у 2 групі тварин та 33,39% ($p < 0,05$) у 1 групі тварин відповідно у порівнянні з 1 тижнем післяопераційного періоду.

Виявлено достовірну різницю показників інтенсивності реакції між 2 та 1 експериментальними групами тварин у терміні 1 та 6 тижнів післяопераційного пе-

ріоду.

У динаміці експерименту у всіх термінах післяопераційного періоду рівень експресії S-100 в ділянці рухового сегментарного центру травмованого периферійного нерву достовірно менше у тварин 2 групи у порівнянні з тваринами 1 групи, що складає у термін 1 тиждень 6,15% ($p < 0,05$), а у термін 6 тижнів 9,65% ($p < 0,05$) відповідно.

Виявлена нами позитивна динаміка інтенсивності експресії S-100 у зв'язку з підвищенням терміну післяопераційного періоду в обох експериментальних групах тварин та наявність достовірної різниці показників інтенсивності реакції між 2 та 1 експериментальними групами у всіх термінах післяопераційного періоду свідчить, що наявна реакція мікрооточення нейронів рухового сегментарного центру (олігодендроцитів та астроцитів) на пошкодження периферійного нерва, яка менш виражена у тварин 2 експериментальної групи. Нами встановлено, що реакція мікрооточення нейрона на пошкодження периферійного нерва в обох експериментальних групах полягає в збільшенні кількості

клітин нейроглії (олігодендроцитів та астроцитів) та активізації їх комунікацій з тілами ушкоджених нейронів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Зниження інтенсивності експресії S-100 у тварин 2 групи у порівнянні з 1 у всіх термінах післяопераційного періоду вказує на більш високу здатність до виживання нейронів 2 групи;

2. мікрооточення нейронів рухового центру травмованого сідничного нерву за умов впливу високочастотної - електрошварювальної технології реагує збільшенням кількості клітин нейроглії та активізацією їх комунікацій;

3. менш виражені зміни кількості та структурної перебудови мікрооточення нейронів рухового центру травмованого сідничного нерву за умов впливу високочастотної-електрошварювальної технології в порівнянні з використанням епіневрального шва свідчить, що застосування нової методики сприяє прискоренню відновлення травмованого периферійного нерва.

Список літератури

- | | | |
|---|--|--|
| Стимуляция регенерации периферического нерва лекарственными средствами / Ю. А. Чельшев, Р. Х. Хафизова, И. С. Рагинов, [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2000. Т. 63, № 4. | C. 17 19. Aldskogius H. Central neuron - glial and glial - glial interactions following axon injury / H. Aldskogius, E. N. Kozlova / Progress in Neurobiology. 1998. Vol. 55. P. 1 26. | Comparison of effects of different electrocautery applications to peripheral nerves: an experimental study / A. Dagtekin, U. Comelekoglu, O. Bagdatoglu [et al.] // Acta Neurochir. 2011. Vol. 153. - 2031 2039. |
|---|--|--|

Корсак А.В., Чайковский Ю.Б., Чухрай С.Н., Рытикова Н.В., Маринский Г.С., Чернец А.В., Лопаткина К.Г., Васильченко В.А., Сидоренко Д.Ф., Буряк Ю.З., Сердюк В.К.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООКРУЖЕНИЯ НЕЙРОЦИТОВ ДВИГАТЕЛЬНОГО ЦЕНТРА ТРАВМИРОВАННОГО СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ЭЛЕКТРОСВАРОЧНОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Резюме. Разработана новая экспериментальная модель соединения тканей в области травмы периферического нерва методом электросварки. Был использован электронномикроскопический и иммуногистохимический метод исследования, которые позволили изучить картину изменений микроокружения нейронов двигательного центра травмированного седалищного нерва и микроокружения нейронов двигательного центра травмированного седалищного нерва в условиях применения высокочастотной сварочной технологии. На 6-й неделе после повреждения нерва в его двигательном сегментарном центре происходит активация микроокружения, которая меньше выражена у животных, которые оперированы по новой методике, что свидетельствует о позитивном влиянии ВЧ-электросварочной технологии на регенерацию.

Ключевые слова: микроокружение, двигательный центр, периферический нерв.

Korsak A.V., Chaikovskiy Y.B., Chukhray S.N., Rytikova N.V., Marinskyi G.S., Chernets A.V., Lopatkina K.G., Vasilchenko V.A., Sidorenko D.F., Buriak Y.Z., Serdyuk V.K.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF NEUROCYTES MICROENVIRONMENT AT SPINAL MOTORIUM CENTER IN CASE OF SCIATIC NERVE TRANSECTION WITH HIGH-FREQUENCY ELECTROSURGICAL TECHNOLOGY APPLICATION

Summary. A new experimental model for electrosurgical tissue connection in peripheral nerve injury site was designed. In current study electron microscopy and immunohistochemical investigation method was used. Neuroglial morphological picture was studied in conditions of sciatic nerve transection and transection with stumps connection by high-frequency electrosurgical instrument application. We observed cells activation from neurocyte microenvironment in proper segmental motorium center at 6 weeks after sciatic nerve injury in both experimental groups. Thus, motorium center neurocyte microenvironment cells are remaining less activated in groups with electrosurgical application that indicates to positive influence on regeneration.

Key words: microenvironment, spinal motorium center, peripheral nerve.

Стаття надійшла до редакції 18.04.2014 р.

Корсак Аліна Вадимівна - к. мед. н., асистент кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; +38 066 454-53-38; Alina.korsak@mail.ru

Чайковський Юрій Богданович - д. мед. н., професор, член кореспондент АМН України, завідувач кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; +38 098 438-49-23; yusyaiko@i.ua

Чухрай Світлана Миколаївна - к. мед. н., асистент кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; +38 096 686-48-45

Ритікова Наталія Володимирівна - к. мед. н., доцент кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; +38 066 788-85-38

Маринський Георгій Сергійович - д. тех. н., провідний науковий співробітник Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України

Чернець Олександр Владиславович - к. тех. н., зав. лабораторії зварювання біологічних тканин Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України; +38 050 502-72-47

Лопаткіна Катерина Гордіївна - провідний інженер-технолог Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України; +38 095 143-68-81

Васильченко Валерій Андрійович - провідний інженер-технолог Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України; +38 067 797-51-24

Сидоренко Дмитро Федорович - провідний інженер-технолог Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України

Буряк Юрій Захарович - провідний інженер-технолог Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України

Сердюк Віктор Костянтинович - провідний інженер-технолог Інституту електрозварювання імені Є.О. Патона НАН України

© Лінник О.О., Древицька Т.І., Чорний С.А., Досенко В.Є., Маньковська І.М.

УДК: 576.311.347+591.04

Лінник О.О.¹, Древицька Т.І.¹, Чорний С.А.², Досенко В.Є.¹, Маньковська І.М.¹

¹ Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України (вул. Богомольця, 4, м. Київ, Україна, 01024), ² Інститут молекулярної біології та генетики НАН України (вул. Заболотного, 146, м. Київ, Україна, 03680)

ВПЛИВ ДОКСОРУБІЦИНУ НА КУЛЬТУРУ ІЗОЛЬОВАНИХ НЕОНАТАЛЬНИХ КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ

Резюме. В статті представлені дослідження впливу антрациклінового антибіотику доксорубіцину на клітинні та молекулярно-генетичні зміни в культурі неонатальних кардіоміоцитів щурів. Вибір цієї речовини пов'язаний з появою нових даних, щодо можливості антрациклінових антибіотиків пригнічувати зв'язок транскрипційного фактору HIF з регуляторними послідовностями в геномі, таким чином, пригнічувати експресію генів-мішеней HIF. Крім того, показано, що речовини цього класу використовують для моделювання оксидативного стресу та кардіоміопатії *in vivo*. У роботі продемонстровано дозу залежність рівня клітинної загибелі та концентрації доксорубіцину, а також вплив змодельованого оксидативного стресу на рівень експресії генів, що кодують 1 α -субодиницю транскрипційного фактору HIF, а також його генів-мішеней TERT та PDK-1.

Ключові слова: кардіоміоцити, мітохондрії, доксорубіцин, оксидативний стрес, HIF.

Вступ

Загальновідомою є здатність протипухлинних препаратів пошкоджувати майже всі органи і тканини організму. Найчастіше при лікуванні онкологічних захворювань використовуються антрациклінові антибіотики, зокрема, доксорубіцин, який є особливо кардіотоксичним та має здатність до потенціювання і кумуляції [Zhang et al, 1996]. Це стало причиною використання доксорубіцинової моделі для відтворення оксидативного стресу *in vitro* та кардіоміопатії *in vivo* та дало можливість дослідження глибинних генетично-молекулярних механізмів впливу антрациклінових антибіотиків на мітохондріальний апарат клітин серця. Відомо, що інтеркалюючи між парами нуклеотидів, ці цитостатики порушують процеси реплікації і транскрипції нуклеїнових кислот, впливають на експресію генів та фосфорилування білків [Filyak&Stoika, 2005]. Ушкодження нуклеїнових кислот можуть спричиняти також вільні радикали, що утворюються під впливом антрациклінів [Коваленко та ін., 2002]. Останніми роками інтенсивно вивчаються реакції інтенсифікації ПОЛ як найімовірніший механізм кардіотоксичної дії антрациклінів. Вільні радикали, що утворюються при застосуванні цих цитостатиків, негативно впливають на серцевий м'яз і особливо на функцію та структуру мембран кардіоміоцитів [Minnoti et al, 1996]. Особливу увагу викликають окиснювальні пошкодження мітохондрій при розвитку антрациклінових кардіоміо-

патій, що підтверджуються в багатьох дослідженнях [Montaigne et al., 2013]. Інкубація культури клітин кардіоміоцитів з доксорубіцином призводила до швидкого селективного зниження експресії кардіальних м'язово-специфічних генів, яке визначали методом Нозерн-блоттингу, що передувало іншим змінам, характерним для антрациклінової кардіоміопатії [Ito et al., 1990].

Крім того, нещодавно стало відомо про можливості антрациклінових антибіотиків блокувати роботу транскрипційного фактору HIF і пригнічувати експресію HIF-залежних генів. Транскрипційний комплекс HIF (hypoxia inducible factor) - фактор, що індукується гіпоксією, вважається відповідальним за розвиток компенсаторних реакцій на нестачу кисню та мобілізацію клітинної відповіді на нього, в тому числі на підвищення продукції вільних радикалів кисню у мітохондріях [Semenza, 2011; Mankovskaya et al., 2006]. Також, нещодавно було показано, що HIF-1 грає критичну роль в регуляції продукції ROS у мітохондріях завдяки різним механізмам: прямим - регуляція біогенезу та аутофагії мітохондрій [Morten et al., 2013], перебудова патерну експресії субодиниць цитохром С оксидази [Fukuda et al., 2007], а також опосередкованим - регуляція експресії PDK-1 (кіназа піруватдегідрогенази), яка фосфорилує та інактивує піруватдегідрогеназу [Kirito et al., 2009]. Зокрема, при гіпоксично-індукованій аутофагії саме HIF-1