

2. В сыворотке крови крыс линии Wistar через 3 часа после ОЦИ увеличивается концентрация ОХ, ТГ, ЛПОНП по сравнению с контрольной группой животных,  $p < 0,05$ .

3. У крыс опытной группы выявлена отрицательная средней силы статистически значимая взаимосвязь между содержанием нитритов и ЛПОНП сыворотки крови,  $p < 0,05$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. — М.: Медицина, 2001. — 328 с.
2. Haddad, G. G. Brain hypoxia and ischemia / G. G. Haddad, Sh. P. Yu.— New York: Humana Press, 2009. — 345 p.
3. Липовецкий, Б. М. Дислипидемии, атеросклероз и их связь с ишемической болезнью сердца и мозга / Б. М. Липовецкий. — СПб.: Эко-Вектор, 2012. — 65 с.
4. Горбачев, В. И. Нарушение нитроксидазной системы при травматическом повреждении головного мозга / В. И. Горбачев, В. В. Ковалев. — Иркутск, 2006. — 158 с.
5. Малахов, В. А. Система оксида азота при церебральном ишемическом инсульте: некоторые патогенетические аспекты / В. А. Малахов, А. Н. Завгородняя // Українські медичинські часописі. — 2007. — № 2. — С. 97–100.

УДК 616.8-091.81:612.82: 616-092.9: 612.014.31

### ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Чубуков Ж. А., Угольник Т. С., Гаражаев Г. И.

Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
г. Гомель, Республика Беларусь

#### Введение

При хроническом стрессе изменяется экспрессия нейрональной NO-синтазы в тканях головного мозга экспериментальных животных. nNOS может оказывать влияние на состояние нейрогенеза и способствовать развитию патологических процессов в тканях головного мозга экспериментальных животных [1].

#### Цель

Изучить изменение экспрессии нейрональной NO-синтазы в тканях головного мозга у самцов беспородных белых крыс при хроническом стрессе.

#### Материал и методы исследования

Исследование проведено на 103 половозрелых самцах беспородных белых крыс весом 180–280 г. В опытной группе животных ( $n = 70$ ) проведено моделирование хронического стресса по методу J. Ortiz (1996) [5]. Группу контроля составили интактные животные ( $n = 33$ ). Животные контрольной группы содержались на типовом рационе вивария со свободным доступом к пище и воде. Исследование проводилось с соблюдением принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1986), Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (Форталеза, Бразилия, 2013).

По завершении эксперимента все крысы декапитированы под эфирным наркозом. Собранные образцы тканей головного мозга сохранены в криобирках при температуре  $-72\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

В тканях головного мозга крыс опытной и контрольной групп проведено определение экспрессии nNOS методом ПЦР в реальном времени. Из образцов тканей головного мозга выделена общая РНК с применением наборов «GeneJet RNA Purification Kit (Thermo Scientific, USA)» и очищена нуклеазами от компонентов ДНК. Проведена обратная транскрипция выделенной РНК в кДНК с использованием наборов «Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, USA)». На амплификаторе RotorGene 3000 выполнена амплификация кДНК с использованием наборов «Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Scientific, USA)». Для амплификации использованы олигонуклеотиды для генов 18s (housekeeping) и nNOS производства ОДО «Праймтех» (Беларусь). Структура и источники олигонуклеотидных последовательностей представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Олигонуклеотидные последовательности генов 18s и nNOS

Ген	Статья-источник	Последовательность (5' → 3')
18s	Piller [et al.] / BMC Research Notes. — 2013. — Vol. 6. — P. 266	GGCTCATTAATCAGTTATGGTTCCT
		GTTGGTTTTGATCTGATAAATGCACG
		TCACTGGCAGCAGCTGCATTCTCG
nNOS	B. Ji [et al.] / Peptides. — 2013. — Vol. 39. — P. 188–194	ACGTTTGGGGTTCAGCAGATCCAA
		GGGAGGCTTGCTGACCCGTT
		TCTGTCACTCGCTCACCACGG

Проведено 40 циклов амплификации, по следующему алгоритму:

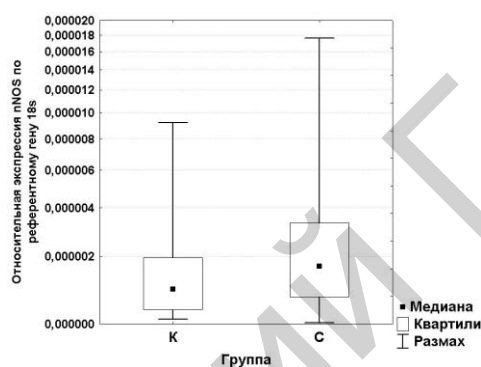
1. Нагревание до 95 °С, инкубация — 15 с.
2. Охлаждение до 60 °С, инкубация — 30 с.
3. Нагревание до 72 °С, инкубация 30 — с.

Сведения об изменениях флуоресценции реакционной смеси в ходе амплификации получали с использованием программы RotorGene 6.0.19. Для гена NO-синтазы, проведен расчет уровня экспрессии относительно housekeeping-гена 18s по методике  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ . Полученные данные сведены в таблицы и обработаны статистически.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием пакета прикладного программного обеспечения «Statsoft (USA) Statistica 8.0». Так как распределение изучаемых количественных показателей отличалось от нормального (критерий Шапиро — Уилка), анализ различий в двух независимых группах производили с использованием критерия Манна — Уитни (U, Z). Данные описательной статистики по количественным показателям представлены в виде медианы и квартилей —  $Me(Q_{25\%}; Q_{75\%})$ . Результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Результаты экспрессии nNOS в тканях головного мозга животных опытной и контрольной групп представлены на рисунке 1.



**Рисунок 1 — Экспрессия nNOS в тканях головного мозга крыс опытной и контрольной групп**

В тканях головного мозга животных опытной группы, перенесших хронический стресс, выявлено статистически значимое повышение ( $U = 857,0$ ;  $Z = -2,106$ ) экспрессии nNOS на 77 % относительно крыс группы контроля,  $p = 0,035$ .

Полученные нами данные о повышении экспрессии nNOS в тканях головного мозга у животных, перенесших хронический стресс, согласуются с результатами исследователей из института фармакологии академии наук Польши А. Gadek-Michalska с соавт., показавшими, что повторяющийся иммобилизационный гомотипический стресс вызывает у 6-месячных самцов крыс линии Вистар усиление экспрессии nNOS во многих отделах головного мозга, с преобладанием в новой коре и гиппокампе, а также в гипоталамусе [2]. Похожие результаты были получены китайскими учеными, которые показали, что при проведении хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс наблюдается селективное повышение экспрессии nNOS в гиппокампе [3].

Экспрессия nNOS в тканях головного мозга экспериментальных животных при хроническом стрессе может приводить к развитию патологических состояний. Показано, что nNOS подавляет нейрогенез в гиппокампе и способствует развитию депрессивноподобного поведения у грызунов при хроническом стрессе [4].

### **Заключение**

Таким образом, у самцов беспородных белых крыс, перенесших хронический стресс, наблюдается статистически значимое повышение экспрессии nNOS в тканях головного мозга по сравнению с животными контрольной группы.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Участие NO-синтазной системы в стресс-опосредованных реакциях головного мозга / А. В. Ховряков [и др.] // Морфология. — 2009. — Т. 135, № 2. — С. 7–11.
2. Gadek-Michalska, A. Effect of repeated restraint on homotypic stress-induced nitric oxide synthases expression in brain structures regulating HPA axis / A. Gadek-Michalska [et al.] // Pharmacol. Rep. — 2012. — № 64. — P. 1381–1390.
3. Neuronal nitric oxide synthase contributes to chronic stress-induced depression by suppressing hippocampal neurogenesis / Q. G. Zhou [et al.] // J Neurochem. — 2007. — № 103. — P. 1843–1854.
4. Депрессивноподобное состояние и сдвиги в содержании аргинина и его метаболитов в тромбоцитах и иммунокомпотентных клетках крови крыс в циркадной модели хронического стресса/ Н. С. Назарян [и др.] // Мед. наука Армении НАН РА. — 2011. — Т. 31, № 1. — С. 62–74.
5. Effect of stress in the mesolimbic dopamine system / J. Ortiz [et al.] // Neuropsychopharmacology. — 1996. — Vol. 14, № 6. — P. 443–452.