

Поиск возраст-зависимых изменений в головном мозге, сердце и почках. //
Search for age-dependent changes in the brain, heart and kidneys.

Научный руководитель – Силачѳв Денис Николаевич

Гладкова Марина Геннадьевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: marinegladkova@gmail.com

Патологические состояния головного мозга, почек и сердца, вызванные ишемией (особенно часто возникающие на фоне сахарного диабета, который по прогнозам ВОЗ будет занимать седьмое место по уровню смертности к 2030 году), являются одними из ведущих причин инвалидизации населения. В исследованиях последних десятилетий была проведена большая работа по изучению механизмов развития ишемического инсульта и процессов репарации, по поиску различных терапевтических подходов. Однако, в качестве экспериментальных моделей использовались молодые организмы, что приводило к провалу клинических испытаний, поскольку инсульт относится к возрастным заболеваниям, и данный факт должен быть учтен при разработке очередной терапевтической стратегии.

Мы предполагаем, что в основе возрастных изменений в ишемической толерантности головного мозга может лежать снижение с возрастом эффективности клеточных систем «контроля качества» митохондрий и митофагии (частного случая аутофагии) [1], что постепенно приводит к накоплению повреждений, увеличению продукции АФК, развитию окислительного стресса и снижению функциональной деятельности органа. Это было показано ранее для сердца [2], а недавно в нашей лаборатории - для почки [3]. В данной работе была предпринята попытка выявить различия в биологических каскадах реакций в головном мозге, сердце и почках среди молодых, старых крыс и крыс линии OXYS, проявляющих признаки преждевременного старения.

В работе использовали нелинейных крыс возрастом 3-5 месяцев (молодые) и 24 месяца (старые), а также крыс из линии OXYS, проявляющих старческий фенотип в молодом возрасте и таким образом заменяющих старых крыс (развитие лизосомально-аутофагических нарушений аналогично). После декапитации и препарирования из извлеченных органов были приготовлены гомогенаты ткани на фосфатно-солевом буфере с добавлением неспецифического ингибитора протеаз PMSF. Методом вестерн-блоттинга осуществлен анализ белковых маркеров в тканях головного мозга, почек и сердца по следующим разделам:

- 1) Оценка количества митохондрий в ткани произведена с использованием антител на цитохром-оксидазный комплекс (IV субъединица) дыхательной цепи с нормировкой на структурный белок клеток β -actin;
- 2) Анализ количества противовоспалительных маркеров с антителами на IL-6, IL-1, TNF α ;
- 3) Анализ количества маркеров аутофагии с антителами на LC3A/B и beclin-1;
- 4) Изучение защитных сигнальных путей с помощью антител на фосфорилированную форму киназы гликоген синтазы (pGSK3b) и общий пул белка GSK3a/b.

Детекция хемилюминесцентного сигнала проводилась с помощью системы “ChemiDoc XRS+” (Bio-Rad, США), анализ полученных изображений - в соответствующей программе “Bio-Rad Image Lab 6.0”. Для статистического обсчета данных использовались программы “Excel” и “R Studio”.

Согласно полученным на данный момент результатам (окончание экспериментов запланировано на март), наблюдаются различия в уровнях экспрессии COX IV в мозге. Аналогичные результаты можно увидеть в почках и сердце, что согласуется с нашей теорией, поскольку наблюдаемое увеличение числа митохондрий с возрастом, вероятно, с целью компенсации пониженной функциональности объясняется снижением уровня обновления поврежденных в процессе старения митохондрий. Также у старых и OXYS крыс мы наблюдаем повышение уровня маркеров аутофагии (наиболее резкое - повышение beclin-1 в образцах мозга), небольшие различия в экспрессии противовоспалительных маркеров и ощутимые изменения защитных сигнальных путей в головном мозге и почках. Таким образом, частично получает подтверждение идея о возможной неприменимости молодых животных в качестве экспериментальных моделей возрастных заболеваний.

Источники и литература

- 1) Gottlieb RA, Carreira RS. Autophagy in health and disease. 5. Mitophagy as a way of life // Am J Physiol, Cell Physiol, 2010 Aug; 299(2):C203-10
- 2) Juhaszova M, Rabuel C, Zorov DB, Lakatta EG, Sollot SJ. Protection in the aged heart: preventing the heart-break of old-age? // Cardiovasc Res., 2005 May 1; 66(2):233-44
- 3) Jankauskas SS, Pevzner IB, Andrianova NV, Zorova LD, Popkov VA, Silachev DN, Kolosova NG, Plotnikov EY, Zorov DB. The age-associated loss of ischemic preconditioning in the kidney is accompanied by mitochondrial dysfunction, increased protein acetylation and decreased autophagy. // Sci Rep. 2017 Mar 15; 7:44430