

УДК: 611.813:616-018:616-002

**ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА В  
ПРЕЛИМБИЧЕСКОЙ КОРЕ БОЛЬШОГО МОЗГА МЫШЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ  
ЭШЕРИХИОЗНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА**

Венедиктов А.А., Кузьмин Е.А., Покидова К.С., Измайлов И.Ю., Пьявченко Г.А.,  
Кузнецов С.Л.

*Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова  
(Сеченовский Университет), Россия, Москва*

Кафедра анатомии и гистологии человека

**Резюме.** Исследование состояло в изучении экспрессии фактора некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ) в прелимбической коре больших полушарий головного мозга у мышей в условиях введения эшерихиозного липополисахарида. Работа выполнена на трёхмесячных самках линии C57Bl/6 ( $n = 10$ ). Животным 1-ой группы на протяжении 4 дней внутрибрюшинно вводили физиологический раствор 1 раз в сутки, а 2-ой группы – 1 мг/кг/сутки эшерихиозного липополисахарида (ЛПС). Мышей выводили из эксперимента, изготавливали срезы головного мозга толщиной 5 мкм, окрашивали при помощи антител к ФНО- $\alpha$ , выполняли морфометрию, подсчёт и статистическую обработку. Средние значения площадей межклеточного вещества с экспрессией ФНО- $\alpha$  между группами не отличаются при  $p < 0,05$ . Введение ЛПС мышам в дозе 1 мг/кг/сутки внутрибрюшинно на протяжении 4 дней не приводит к повышению экспрессии ФНО- $\alpha$  в прелимбической коре больших полушарий. Целесообразно продолжение изучения экспрессии цитокинов в нервной ткани разных участков коры большого мозга.

**Ключевые слова:** ФНО- $\alpha$ , липополисахарид, нейроморфология.

**TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA EXPRESSION IN THE CEREBRAL PRELIMBIC  
CORTEX OF MICE AFTER INTRAPERITONEAL ESCHERICHAL  
LIPOPOLYSACCHARIDE**

Venediktov A.A., Kuzmin E.A., Pokidova K.S., Piavchenko G.A., Kuznetsov S.L.  
Sechenov First Moscow State Medical University, Russia, Moscow

**Abstract.** Our study regarded tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) expression in cerebral prelimbic cortex of mice after escherichial lipopolysaccharide. The experiments included 3-mo-old female C57Bl/6 mice ( $n = 10$ ). Animals of Group 1 received intraperitoneal (i. p.) saline once a day four 4 days, and of Group 2 – 1

mg/kg of i. p. E. coli lipopolysaccharide (LPS). Mice were sacrificed, then brain slides were made, stained by anti-TNF- $\alpha$  antibodies, and processed with morphometrics and statistical data curation. The means of areas of intercellular substance areas with TNF- $\alpha$  expression are not significantly different,  $p < 0,05$ . Mice do not experience TNF- $\alpha$  overexpression in cerebral PrL cortex after LPS i. p. injections at 1 mg/kg for 4 days.

**Key words:** TNF- $\alpha$ , lipopolysaccharide, neuromorphology.

### **Введение**

На протяжении последних десятилетий нарастает актуальность изучения цитокиновых каскадов в коре больших полушарий для лучшего понимания её структуры и функции в здоровом состоянии и при нарушениях, особенно свойственных старению и/или нейродегенеративным патологиям. Чаще всего в головном мозге такие цитокиновые каскады включают повышенную экспрессию фактора некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ) [1, 2]. При этом одним из важнейших химико-биологических агентов, способных провоцировать активацию цитокиновых реакций, стал бактериальный липополисахарид (ЛПС).

**Цель исследования:** изучить количественные изменения экспрессии ФНО- $\alpha$  в прелимбической коре больших полушарий головного мозга у мышей при введении эшерихиозного липополисахарида.

### **Материалы и методы**

Объектом исследования были трёхмесячные самки мышей C57Bl/6 ( $n=10$ ). Животных содержали в виварии с поддержанием адекватных температуры, влажности, световой нагрузки и хендлинга, круглосуточным доступом к воде и пище. После карантина и осмотра ветврачом их рандомизировали на две группы по пять животных. Животным 1-ой группы на протяжении 4 дней внутрибрюшинно вводили физиологический раствор 1 раз в сутки, а 2-ой группы – 1 мг/кг/сутки эшерихиозного ЛПС. Мышей выводили из эксперимента, изготавливали парафиновые корональные срезы головного мозга толщиной 5 мкм по заднему краю обонятельных луковиц. Срезы иммуногистохимически окрашивали при помощи моноклональных антител к ФНО- $\alpha$ . Оценивали морфологию прелимбической коры [3]. Поскольку ФНО- $\alpha$  в нервной ткани продуцируется в основном астроцитами и выделяется внеклеточно, для количественной оценки выполняли гистологическое исследование препаратов, фотографирование соответствующих цели исследования участков коры (Axio Imager.A1 с камерой AxioCam 305 color и программным обеспечением Zen 3.3) и морфометрию с подсчётом площади межклеточного вещества, экспрессирующего искомый маркер, при помощи программного обеспечения ImageJ (Университет Висконсина, США). Статистическую обработку проводили с использованием программного решения OriginPro (OriginLab, США) с оценкой нормальности распределения по Шапиро-Уилку и однофакторным дисперсионным анализом. Исследование одобрено к выполнению Локальным этическим комитетом

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России (протокол № 01-22 от 20.01.2022).

### Результаты и их обсуждение

У мышей 1-ой группы в прелимбической коре больших полушарий выявлено  $617527,1 \pm 21441,96$  условных единиц площади с экспрессией ФНО- $\alpha$  в поле зрения, а 2-ой группы –  $669220,3 \pm 18127,65$  условных единиц (рис. 1). Распределение выборок нормальное, статистически значимой разницы при величине  $p$  менее 0,05 между группами нет.

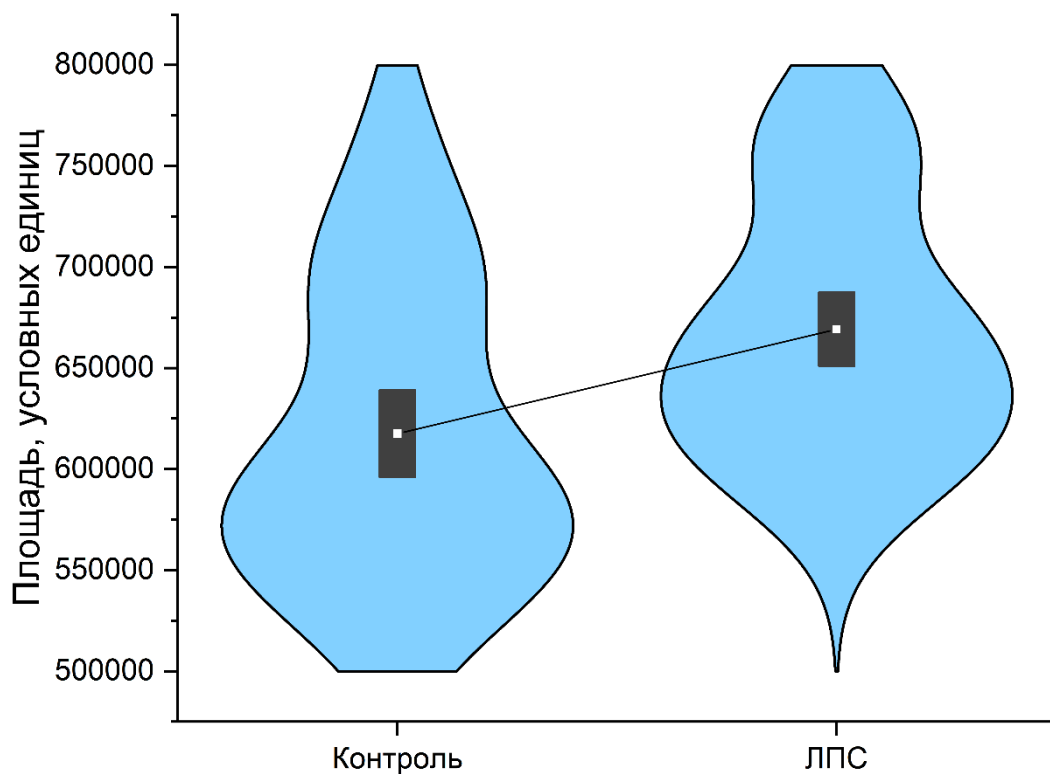


Рисунок 1. Площадь межклеточного вещества с положительной реакцией антител к ФНО- $\alpha$  в прелимбической коре большого мозга при введении ЛПС.

Исследование не выявило количественной разницы в экспрессии ФНО- $\alpha$  в прелимбической коре больших полушарий при введении ЛПС или физиологического раствора. При этом данные предыдущих экспериментов (приняты к публикации) показали, что в цингулярной коре у мышей при аналогичных дозах экспрессия ФНО- $\alpha$  увеличивается значительно.

Таким образом, ответ астроглии в прелимбической коре на такой проникающий через гематоэнцефалический барьер раздражитель, как ЛПС, значительно слабее по сравнению с воздействиями, наблюдаемыми в прочих областях. Тем не менее, эта зона страдает при

нейродегенеративных заболеваниях, моделью которых и является введение ЛПС. Необходимо дальнейшее изучение прелимбической коры с точки зрения иных клеточных и тканевых механизмов, задействованных при введении ЛПС.

**Выводы.** Введение ЛПС мышам в дозе 1 мг/кг/сутки внутривентриально на протяжении 4 дней не приводит к повышению экспрессии ФНО- $\alpha$  в прелимбической коре больших полушарий. Необходимо исследование экспрессии цитокинов при введении ЛПС в других зонах коры.

### **Список литературы**

1. Clarke, L. E., Liddel, S. A., Chakraborty, C. et al. Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2018 – N. 115(8). – P. 1896-1905.
2. Liu, T. W., Chen, C. M., Chang, K. H. Biomarker of Neuroinflammation in Parkinson's Disease. // International journal of molecular sciences. – 2022. – N 23(8). – P. 4148. <https://doi.org/10.3390/ijms23084148>.
3. Paxinos G., Franklin K. Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. / Elsevier Science, 2012. – 360 pp.