

Эффект PRO-GLY-PRO на кальциевый гомеостаз нейронов в условиях глутаматной эксайтотоксичности после механической травмы IN VITRO

Научный руководитель – Бакаева Занда Валерьевна

Гончаров Михаил Максимович

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: misha121097@gmail.com

Механическая травма мозга - это комплексный патологический процесс, обладающий высоким процентом смертности. Наиболее важными его составляющими являются первичный ишемический стресс, глутаматная эксайтотоксичность, оксидативный стресс, которые в сумме приводят к обширной гибели нервных клеток [1]. Pro-Gly-Pro (PGP) - регуляторный пептид, продукт гидролиза коллагена в организме, обладающий широким спектром нейропротекторных и противовоспалительных свойств in vitro и in vivo [2].

В настоящей работе исследовано влияние PGP на кальциевый гомеостаз нейронов в условиях глутаматной эксайтотоксичности после механического нарушения целостности первичной нейроглиальной культуры.

Первичные нейроглиальные культуры получали из кортекса 1-2 дневных крысят линии Wistar. Клетки ($2,5 \times 10^5$ /лунку) выращивали в чашках Петри со стеклянным дном (MatTek, USA), предварительно покрытым полиэтиленмином, в стандартных условиях. На четвертый день после посадки (4 DIV) клеточную культуру травмировали путем нанесения прямой царапины вдоль диаметра лунки одноразовым наконечником (Eppendorf, 200 μ l). PGP (10 мкМ) добавляли сразу после нанесения царапины, а также каждые 24 часа в течение 6-ти дней.

Измерения (10 DIV) внутриклеточной концентрации свободного кальция $[Ca^{2+}]_i$ и митохондриального потенциала ($\Delta\Psi_m$) выполняли с помощью флуоресцентных зондов (соответственно Fura-FF и Rh123) с использованием системы анализа изображений на базе инвертированного микроскопа и мультиволнового возбуждения и регистрации флуоресценции.

Предварительное воздействие PGP на клетки из травмированных культур уменьшало выраженность глутамат-индуцированных (Glu, 100 мкМ) изменений $[Ca^{2+}]_i$ и Ψ_m ($p < 0,01$ и $p < 0,0001$ соответственно). PGP увеличивал lag-период развития отложенной кальциевой дизрегуляции ($p < 0,0001$). В постглутаматный период клетки, предварительно обработанные PGP, эффективнее восстанавливали $[Ca^{2+}]_i$ и Ψ_m ($p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно).

Таким образом, было показано, что пептид PGP (10 мкМ) может ослаблять эксайтотоксическое действие глутамата на клетки первичной нейроглиальной культуры после механической травмы.

Исследование поддержано грантами РНФ 17-15-01487 и КОМФИ 17-00-00106

Источники и литература

- 1) Cheng G. et al. Mitochondria in traumatic brain injury and mitochondrial-targeted multipotential therapeutic strategies //British journal of pharmacology. – 2012. – Т. 167. – №. 4. – С. 699-719.
- 2) Storozhevikh T. P. et al. Effects of semax and its Pro-Gly-Pro fragment on calcium homeostasis of neurons and their survival under conditions of glutamate toxicity //Bulletin of experimental biology and medicine. – 2007. – Т. 143. – №. 5. – С. 601-604.