

Участие гистондеацетилаз HDAC2, HDAC3 и проапоптотических белков в выживании и гибели клеток DRG после перерезки седалищного нерва

Научный руководитель – Демьяненко Светлана Викторовна

Дзррян Валентина Александровна

Сотрудник

Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича Ивановского, Лаборатория "Молекулярная нейробиология Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: dzreyan2016@mail.ru

Эпигенетическая регуляция повреждений периферических нервов в последние годы привлекает пристальное внимание исследователей [1,2]. Но роль эпигенетических процессов в регуляции гибели и выживаемости клеток в первые часы после повреждения нервов пока не изучена. При действии неблагоприятных факторов HDACs I класса способны перемещаться из ядра в цитоплазму клеток, где они влияют на функцию разнообразных негистоновых белков путем их деацетилирования [3]. Иммуноблотинг показал, что в аксотомированных ганглиях дорзальных корешков спинного мозга крысы (DRG, dorsal root ganglia) наиболее ранние и специфичные изменения наблюдались со стороны гистондеацетилаз HDAC2 и HDAC3, экспрессия которых возрастала уже через 1 и 4 часа после перерезки седалищного нерва. Экспрессия фактора транскрипции E2F1 в аксотомированных нейронах DRG повышалась через 4 часа, активированной каспазы 3 и каспазы 6 - через 24 часа. Показано, что перерезка седалищного нерва вызывает транслокацию HDAC3 из цитоплазмы в ядро в первые 24 часа после аксотомии. Иммунофлуоресцентная микроскопия указывает на перераспределение E2F1 между ядром и цитоплазмой в аксотомированных нейронах DRG. Аксотомия седалищного нерва крыс вызывала достоверное снижение уровня Akt через 24 часа в цитоплазматической фракции клеток ганглиев. Наши данные свидетельствуют о вовлеченности HDAC2 и HDAC3, а также проапоптотических белков E2F1 и каспаз 3 и 6 в вызванное аксотомией повреждение клеток DRG. Полученные результаты об изменении экспрессии исследуемых белков могут лечь в основу теоретической базы о механизмах нейродегенерации при аксотомии периферических нервов. Кроме того, данные белки могут служить в качестве потенциальных молекулярных мишеней при разработке нейропротекторов. Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ № 0852-2020-0028 и стипендии Президента Российской Федерации для молодых ученых.

Источники и литература

- 1) Dzreyan, V. A., Rodkin, S. V., Pitinova, M. A., & Uzdensky, A. B. (2021a). HDAC1 Expression, Histone Deacetylation, and Protective Role of Sodium Valproate in the Rat Dorsal Root Ganglia After Sciatic Nerve Transection. *Molecular neurobiology*, 58(1), 217–228. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02126-7>
- 2) Dzreyan, V., Rodkin, S., Nikul, V., Pitinova, M., & Uzdensky, A. (2021b). The Expression of E2F1, p53, and Caspase 3 in the Rat Dorsal Root Ganglia After Sciatic Nerve Transection. *Journal of molecular neuroscience : MN*, 71(4), 826–835. <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01705-6>
- 3) Weng, Y. L., Joseph, J., An, R., Song, H., & Ming, G. L. (2016). Epigenetic regulation of axonal regenerative capacity. *Epigenomics*, 8(10), 1429–1442. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0058>

Иллюстрации

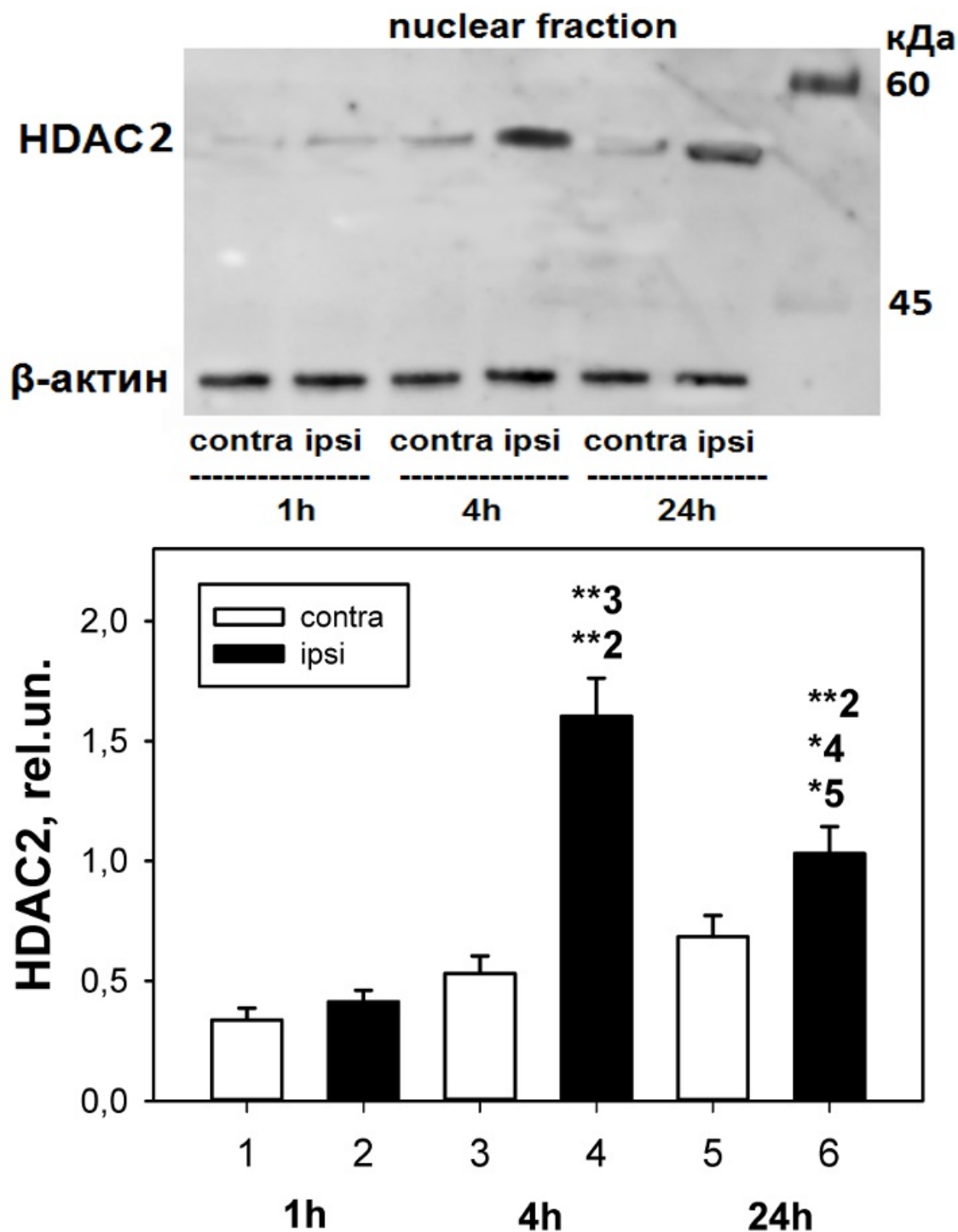


Рис. 1. Иммуноблоттинг. Изменения уровня HDAC2 в ядерной фракции аксотомированных ипсилатеральных DRG крыс через 1, 4 и 24 ч после перерезки седалищного нерва по сравнению с контралатеральными ганглиями тех же животных. Обозначения: ipsi – аксотомированный ипсилатеральный ганглий, contra – контралатеральный интактный ганглий. One Way ANOVA. $M \pm SEM$. $n=7$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

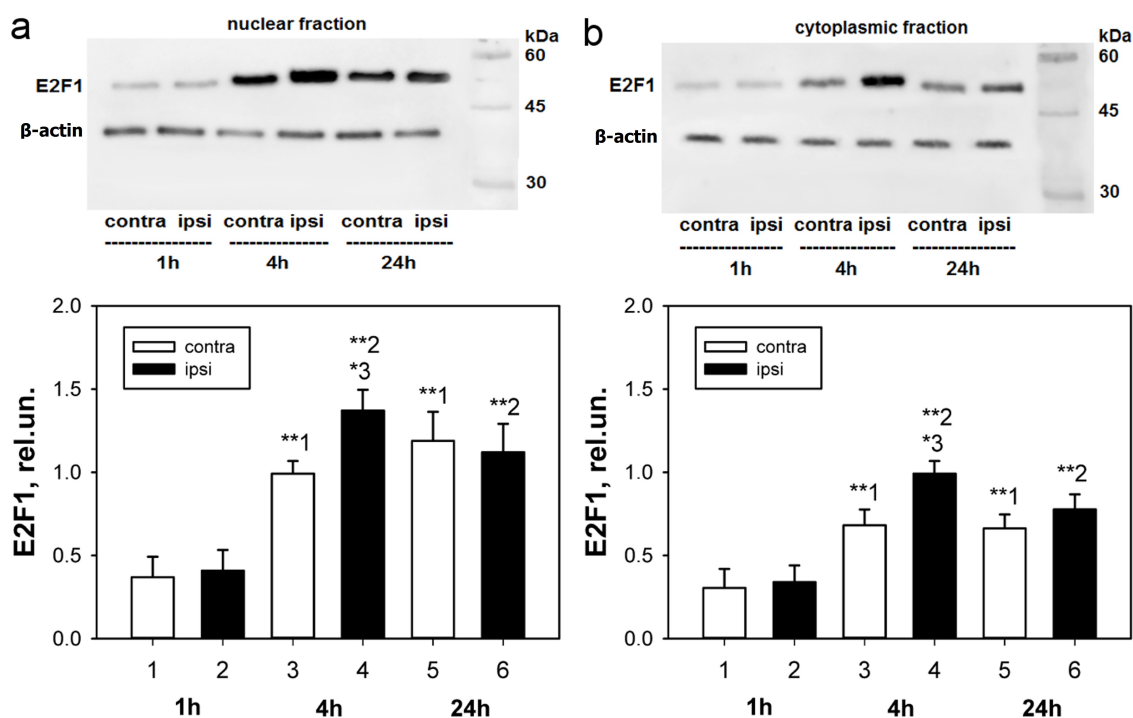


Рис. 2. Иммуноблоттинг. Изменения уровня E2F1 в ядерной и цитоплазматической фракциях аксотомированных ипсилатеральных DRG крыс через 1, 4 и 24 ч после перерезки седалищного нерва по сравнению с контралатеральными ганглиями тех же животных. Обозначения: ipsi – аксотомированный ипсилатеральный ганглий, contra – контралатеральный интактный ганглий. One Way ANOVA. $M \pm SEM$. $n=7$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

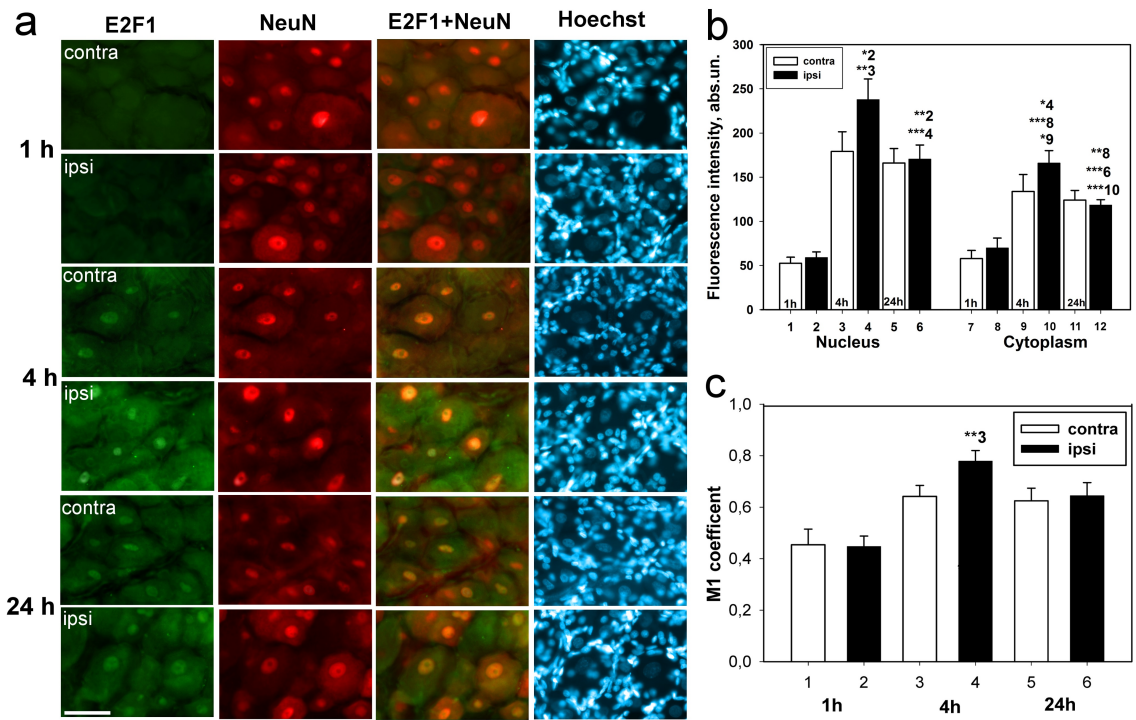


Рис. 3. Флуоресцентная микроскопия: (а) экспрессия E2F1 (зеленая флуоресценция) в нейронах DRG крыс через 1, 4 и 24 часа после перерезки седалищного нерва. Шкала 50 мкм. (b) средняя флуоресценция антитела против E2F1 в ядрах и цитоплазме нейронов в аксотомированных и контрольных DRG через 1, 4 и 24 часа после перерезки седалищного нерва. (c) коэффициент колокализации M1 E2F1 и нейронального ядерного маркера в аксотомированных ипсилатеральных и контрольных контралатеральных DRG через 1, 4 и 24 часа после аксотомии. Обозначения: ipsi – аксотомированный ипсилатеральный ганглий, contra – контралатеральный интактный ганглий. NeuN – нейрональный ядерный маркер; E2F1+NeuN – наложение флуоресценции антител против E2F1 и флуоресценции NeuN. Hoechst – флуоресценция Hoechst 33342, визуализирующая ядра нейрональных и глиальных клеток. One Way ANOVA. M±SEM. n=7. *p < 0,05; **p < 0,01; ***p<0,001

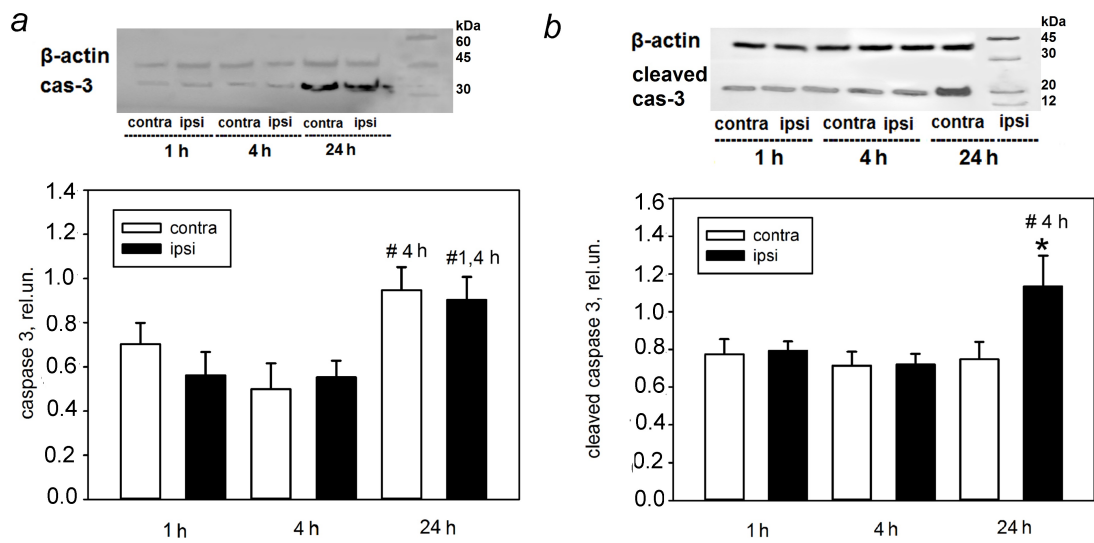


Рис. 4. Иммуноблоттинг. Изменения уровня caspase 3 (а) и cleaved caspase 3 (б) общей фракции аксотомированных ипсилатеральных DRG крыс через 1, 4 и 24 ч после перерезки седалищного нерва по сравнению с контралатеральными ганглиями тех же животных. Обозначения: ipsi – аксотомированный ипсилатеральный ганглий, contra – контралатеральный интактный ганглий. One Way ANOVA. $M \pm SEM$. $n=7$. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$