

DOI: 10.1134/S0041377118120088

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ДЕАЦЕТИЛАЗ ГИСТОНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В СТРУКТУРАХ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИПОКСИИ

© А. В. Чурилова,* Т. С. Глуценко, Е. А. Рыбникова, М. О. Самойлов

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034;

** электронный адрес: anpnh05@mail.ru*

Активность транскрипции генов в значительной мере зависит от степени ацетилирования гистонов и может нарушаться при различных воздействиях, в том числе гипоксии. Применение ингибиторов деацетилаз гистонов, усиливающих ацетилирование гистонов, способствует активации транскрипции и рассматривается в качестве нового направления таргетной терапии пост-гипоксических состояний. В проведенной работе в оригинальной модели тяжелой гипобарической гипоксии были исследованы эффекты применения ингибитора трихостатина А (ТСА) на уровень экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (ГР) в неокортексе и гиппокампе крыс иммуногистохимическим методом. Было обнаружено, что инъекции ТСА усиливают экспрессию ГР после тяжелой гипобарической гипоксии (ТГГ) в неокортексе и поле СА1, не изменяют ее — в зубчатой извилине гиппокампа крыс. Поскольку сверхэкспрессия ГР способствует усилению токсического действия циркулирующих глюкокортикоидных гормонов на нейроны гиппокампа, стимуляция экспрессии ГР инъекциями ТСА в СА1 поле гиппокампа может носить дезадаптивный характер, потенцируя повреждающее действие неблагоприятных факторов, в частности ТГГ. Полученные данные позволяют предположить, что терапия ингибиторами деацетилаз гистонов может обладать нежелательными побочными эффектами на уязвимые нейроны мозга.

Ключевые слова: ингибиторы деацетилаз гистонов, ацетилирование гистонов, глюкокортикоидные рецепторы, гипоксия, нейроны мозга

Принятые сокращения: асНЗК9 — ацетилирование гистона НЗ по лизину 9, ГГАС — гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система, ГР — глюкокортикоидные рецепторы, ТГГ — тяжелая гипобарическая гипоксия, ТСА — трихостатин А.

Ацетилирование гистонов является одной из важнейших эпигенетических модификаций, регулирующих уровень транскрипционной активности генов (Gibson, Murphy, 2010; Schweizer et al., 2013). Степень ацетилирования гистонов находится под контролем двух семейств ферментов-антагонистов: ацетилтрансфераз гистонов и деацетилаз гистонов (Grunstein, 1997; Vogelauer et al., 2000). Ацетилирование гистонов по лизиновым остаткам, осуществляемое ацетилтрансферазами гистонов, нейтрализует положительный заряд на поверхности молекулы и приводит к ослаблению электростатического взаимодействия с отрицательно заряженной молекулой ДНК, в результате чего сайты связывания в промоторных участках генов открываются для транскрипционных факторов и транскрипция становится возможной (Grunstein, 1997; Hebbes et al., 1998). Напротив, деацетилирование гистонов, опосредуемое деацетилазами гистонов, способствует более сильному связыванию гистонов и ДНК и приводит к репрессии генов (Braunstein et al., 1993). Таким образом, уровень транскрипционной активности генов является динамическим процессом и может изменяться под действием каких-либо факторов, в том числе гипоксии.

Известно, что тяжелая гипоксия (ишемия) запускает каскад патофизиологических процессов, которые приводят к структурным и функциональным повреждениям нейронов и их гибели в чувствительных образованиях мозга, в первую очередь неокортексе и гиппокампе (Siesjo, Wieloch, 1985; Самойлов, 1999; Рыбникова и др., 2004; Kawahara et al., 2004). В частности, известно, что действие тяжелой повреждающей гипоксии связано с репрессией генов, и это позволяет предполагать также вовлечение в эти процессы механизмов ацетилирования (деацетилирования) гистонов (Johnson, Barton, 2008). Действительно, ранее нами было показано, что при действии тяжелой гипобарической гипоксии (ТГГ, 180 мм рт. ст.) происходит снижение ацетилирования гистона НЗ по лизину 24 (Samoilov et al., 2016). При этом нарушается экспрессия ряда транскрипционных факторов и проадаптивных белков (Самойлов, Рыбникова 2012). Напротив, превентивное воздействие прекондиционированием значительно повышает уровень ацетилирования гистонов, что сопровождается ап-регуляцией экспрессии проадаптивных белков и проявлением выраженного нейропротективного эффекта в условиях ТГГ (Samoilov et al.,

2016). Таким образом, стимуляция процессов ацетилирования гистонов при действии гипоксии может способствовать активации транскрипции проадаптивных генов и синтезу соответствующих белковых продуктов, и применение ингибиторов деацетилаз гистонов, усиливающих ацетилирование гистонов, представляет собой перспективный терапевтический подход в решении данной задачи. С целью анализа этого вопроса в настоящей работе с использованием оригинальной модели гипобарической гипоксии изучали эффекты превентивного применения ингибитора деацетилаз гистонов трихостатина А (ТСА) у крыс в модели ТГГ на уровень экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (ГР) в гиппокампе и неокортексе.

Материал и методика

Исследование выполнено на взрослых крысах-самцах линии Вистар (200—220 г), полученных из биокolleкции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, поддержанной ФАНО России. При проведении экспериментов соблюдали требования, сформулированные в директивах Совета Европейского сообщества (89/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований. Протоколы опытов утверждены комиссией по гуманному обращению с животными Института физиологии им. И. П. Павлова РАН.

Тяжелую гипобарическую гипоксию (ТГГ) создавали в барокамере проточного типа при давлении 180 мм рт. ст. в течение 3 ч. За 20 мин до начала подъема давления животным производили инъекции трихостатина А или растворителя. Трихостатин А (ТСА, Santa Cruz Biotechnology, США, sc3511) растворяли в 10%-ном диметилсульфоксиде и вводили животным внутривентриально в дозе 0.2 мг на 1 кг массы животного. Контрольная группа крыс находилась в барокамере 3 ч при давлении 760 мм рт. ст. В эксперименте участвовали три группы животных: группа ТГГ (18 животных), группа ТСА+ТГГ (18 животных), контрольная группа (6 животных). Через 3, 24 ч и 3 сут после ТГГ животных декапитировали, извлекали головной мозг и выделяли область, содержащую фронто-париетальный неокортекс и гиппокамп. Выделенные образцы мозга фиксировали в 4%-ном параформальдегиде, приготовленном на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.4), в течение 24—36 ч и подвергали гистологической обработке по стандартному протоколу. Готовили серии парафиновых фронтальных срезов мозга толщиной 7 мкм на уровне –2.8 мм от брегмы и монтировали их на предметные стекла. Для выявления уровня ацетилирования гистона H3 и экспрессии ГР в неокортексе и гиппокампе крыс использовали иммуногистохимический метод. Для этого препараты депарафинизировали и регидратировали. Для демаскировки препараты помещали в цитратный буфер (0.01 М, рН 6.0) в скороварке, доводили до кипения и выдерживали 1 мин под давлением. Затем блокировали неспецифическое связывание нормальной козьей сывороткой (Vector Laboratories PK-4001, Inc., США). Инкубировали с первичными поликлональными кроличьими антителами к ацетилированному гистону H3 по лизину 9 (асНЗК9, Sigma-Aldrich, USA, SAB4500347, 1 : 200), поликлональными кроличьими антителами к ГР (Santa Cruz Biotechnology, США, sc-8992, 1 : 200) в течение ночи при 4 °С. Далее инкубировали последовательно со вторичными биотинилированными козьими антителами

(Vector Laboratories PK-4001, США) и авидин-биотинным комплексом (ABC, Vector Laboratories PK-4001, США) по 30 мин во влажной камере при комнатной температуре. Визуализацию реакции проводили диаминобензидином (DAB peroxidase substrate kit, Vector Laboratories, США). Между всеми этапами инкубации, кроме этапа после блокирования неспецифического связывания, стекла отмывали в PBS (рН 7.4) 2 раза по 5 мин. Срезы высушивали и заключали в монтирующую среду Bio-Mount (Bio-Optica, Италия). Количественный анализ иммунореактивности проводили с применением системы, состоящей из светового микроскопа Olympus CX31 (Olympus, Япония), цифровой камеры Progres CT1 (Jenoptik, Германия) и компьютера IBM PC с программным обеспечением Videotest Master Morphology 5.2 (Россия). Производили измерения средней оптической плотности иммунопозитивных объектов. Статистическую обработку полученных результатов проводили в программах Excel 2010 и Statistica 7.0, использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA ($P < 0.05$). Все данные представлены в виде среднего арифметического \pm стандартная ошибка среднего. Результаты и стандартная ошибка среднего выражены в процентах от контроля, принятого за 100 %.

Результаты

Изменения уровня ацетилирования гистона H3 (асНЗК9). Воздействие ТГГ на крыс не оказывало влияния на уровень иммунореактивности к асНЗК9 в исследованных слоях неокортекса и поля гиппокампа крыс (рис. 1). Напротив, инъекции ТСА приводили к усилению ацетилирования H3K9 через 3 ч после ТГГ как в неокортексе, так и в гиппокампе крыс. Во II и V слоях неокортекса оптическая плотность увеличивалась на 20 и 40 % относительно контроля соответственно (рис. 1, а, б). Наибольшие изменения наблюдались в поле

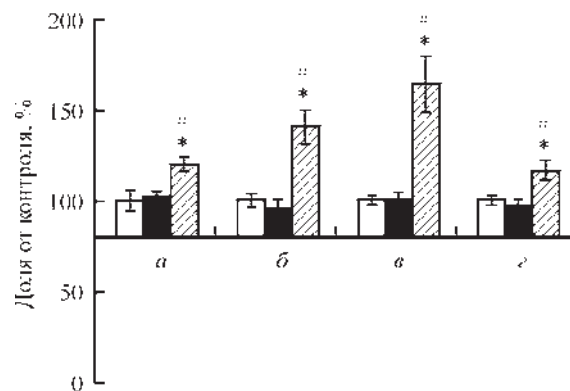


Рис. 1. Изменение средней оптической плотности препаратов структур мозга после иммуногистохимического выявления асНЗК9 у крыс, получавших инъекции растворителя или трихостатина А (ТСА), через 3 ч после ТГГ.

а—г — II, V слой неокортекса, поле СА1 и зубчатая извилина гиппокампа соответственно. Белые столбики — контрольные животные, черные столбики — группа животных, подвергнутых тяжелой гипобарической гипоксии (ТГГ), заштрихованные столбики — группа животных, получавших инъекцию ТСА перед ТГГ (ТСА+ТГГ). По вертикали — значения средней оптической плотности, выраженные в процентах от контроля. Звездочка — отличие от контроля достоверно при $P \leq 0.05$, решетка — отличие от группы ТГГ достоверно при $P \leq 0.05$. Вертикальные отрезки — ошибка среднего.

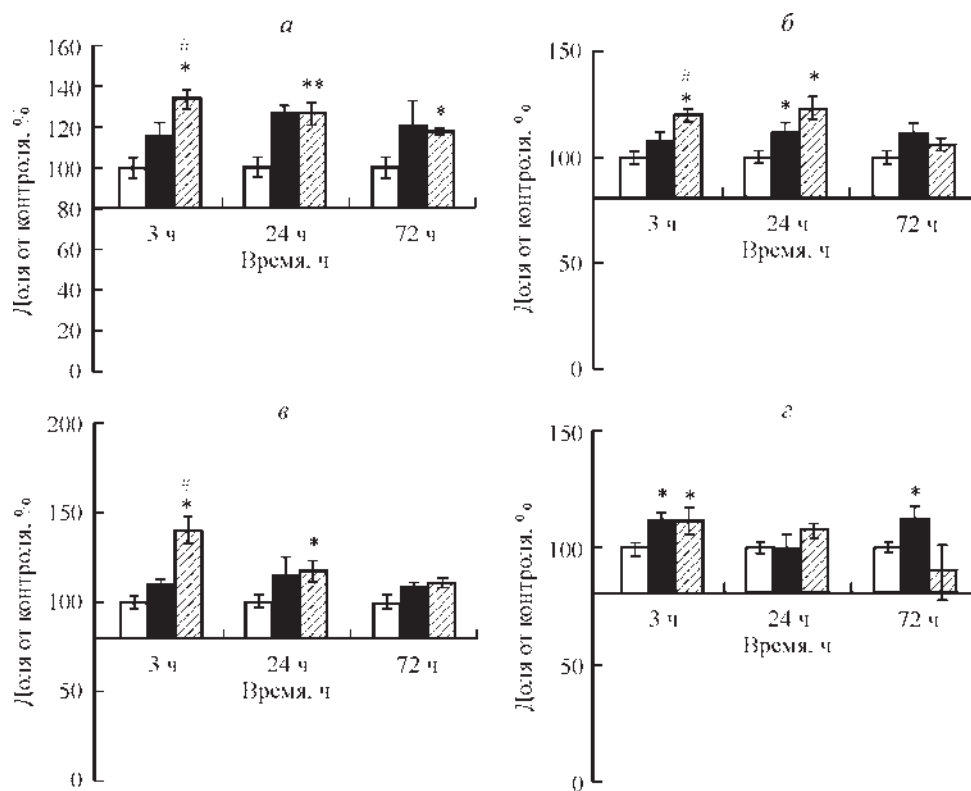


Рис. 2. Изменение средней оптической плотности препаратов структур мозга после иммуноцитохимического выявления глюкокортикоидных рецепторов (ГР) у крыс, получавших инъекции растворителя или трихостатина А, через 3, 24 и 72 ч после ТГГ.

а—г — II, V слои неокортекса, поле СА1 и зубчатая извилина гиппокампа соответственно. Белые столбики — контрольные животные, черные столбики — группа животных, подвергнутых тяжелой гипобарической гипоксии (ТГГ), заштрихованные столбики — группа животных, получавших инъекцию ТСА перед ТГГ (ТСА+ТГГ). По вертикали — значения средней оптической плотности, выраженные в процентах от контроля. По горизонтали — время взятия биологического материала, ч. Звездочка — отличие от контроля достоверно при $P \leq 0.05$, решетка — отличие от группы ТГГ достоверно при $P \leq 0.05$. Вертикальные отрезки — ошибка среднего.

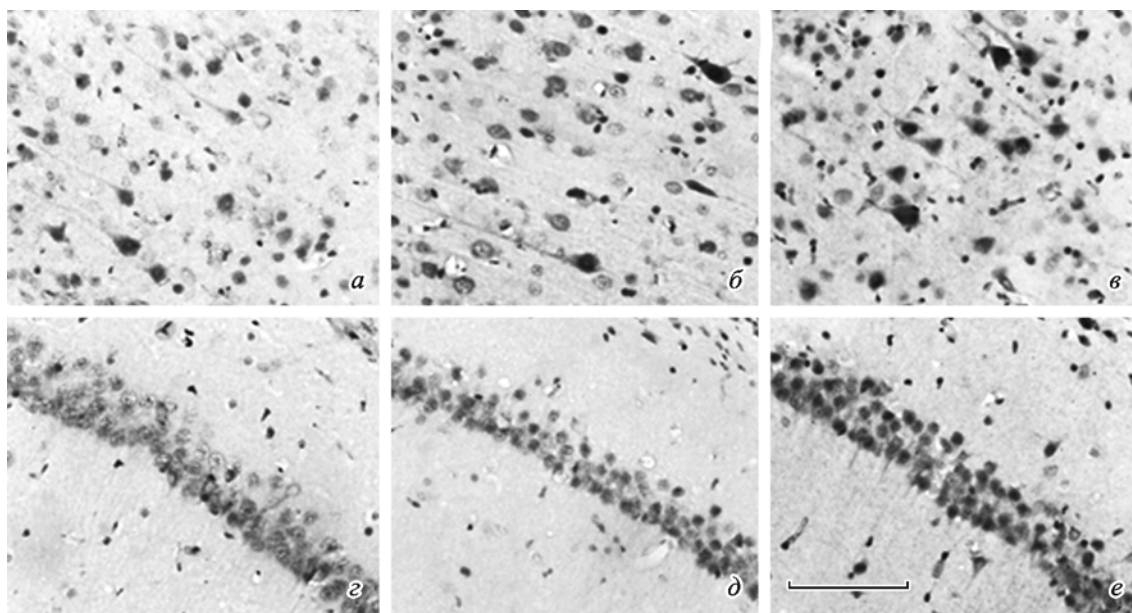


Рис. 3. Иммуногистохимическая реакция на ГР в клетках V слоя неокортекса (а—в) и поля СА1 гиппокампа (г—е) крыс, получавших инъекции растворителя (б, д) или трихостатина А (е, е), через 3 ч после ТГГ.

а, г — контроль. Масштабный отрезок — 100 мкм.

CA1 гиппокампа, где уровень иммунореактивности к асНЗК9 повышался на 60 % относительно контроля (рис. 1, в). Менее значительное увеличение оптической плотности отмечалось в зубчатой извилине гиппокампа — на 16 % относительно контроля (рис. 1, з).

Изменения экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (ГР). ТГГ приводила к усилению экспрессии ГР в неокортексе к 24 ч после воздействия. Во II слое оптическая плотность увеличивалась на 27 %, а в V слое — на 12 % относительно контроля (рис. 2, а, б; 3, а, б). К 3-м сут после ТГГ уровень иммунореактивности достоверно не отличался от контроля. В отличие от этого инъекции ТСА приводили к повышению уровня ГР уже на раннем сроке после ТГГ (3 ч) (рис. 3, в). При этом показатели увеличивались на 34 и 20 % относительно контроля во II и V слоях неокортекса соответственно (рис. 2, а, б). Следует отметить, что уровень экспрессии ГР у животных, получавших инъекцию ТСА, был достоверно выше уровня экспрессии ГР у животных без инъекций после ТГГ в этом временном промежутке. К 24 ч после ТГГ уровень иммунореактивности к ГР у животных, получавших инъекцию, превосходил контрольные значения, но достоверно не отличался от уровня иммунореактивности ГР у животных без инъекций.

В поле CA1 гиппокампа ТГГ не оказывала влияния на уровень экспрессии ГР (рис. 3, з, д). Вместе с тем инъекции ТСА увеличивали показатели оптической плотности на 40 % относительно контроля через 3 ч после ТГГ (рис. 2, в; 3, е). К 24 ч после ТГГ интенсивность иммунореактивности несколько снижалась и составляла 117 % относительно контроля, а через 3 сут не отличалась от контроля. В зубчатой извилине ТГГ приводила к увеличению иммунореактивности к ГР через 3 ч после воздействия как у животных без инъекций, так и у животных, получавших инъекцию ТСА. При этом показатели оптической плотности не различались между двумя группами (рис. 2, з). К 24 ч после ТГГ уровень экспрессии ГР в зубчатой извилине гиппокампа не отличался от контроля в обеих экспериментальных группах.

Обсуждение

В последние годы использование ингибиторов деацетилаз гистонов рассматривается как один из перспективных методов лечения различного рода патологических состояний, в том числе и неврологических заболеваний (Gibson, Murphy, 2010; Shein, Shohami, 2011). В ряде исследований показан положительный эффект применения ингибиторов деацетилаз гистонов в модели ишемии мозга. В частности, на фоне инъекций ингибиторов деацетилаз гистонов значительно уменьшаются размер ишемического ядра и неврологический дефицит, а также улучшается функциональное восстановление после ишемии (Ren et al., 2004; Kim et al., 2007; Yildirim et al., 2008; Langley et al., 2009; Gibson, Murphy 2010). Полагают, что в значительной степени нейропротективный эффект, выявленный в данных работах, связан с противовоспалительным действием ингибиторов деацетилаз гистонов, т. е. с подавлением активации микроглии, уменьшением ее количества, а также со снижением синтеза провоспалительных маркеров.

В настоящем исследовании показано, что инъекции ТСА усиливали степень ацетилирования НЗК9 в неокортексе и гиппокампе крыс в условиях ТГГ в ранний период

после воздействия, который является наиболее важным для инициации транскрипции. В соответствии с этим экспрессия ГР в неокортексе и поле CA1 гиппокампа крыс также увеличивалась уже к 3 ч после ТГГ у животных, получавших инъекцию ТСА, по сравнению с животными без инъекций; т. е. инъекции ТСА, очевидно, стимулировали транскрипцию гена, кодирующего ГР, и экспрессию соответствующего белкового продукта.

Нами проведен детальный сравнительный анализ профиля экспрессии ГР в модели ТГГ при хорошо изученном ранее нейропротективном воздействии гипоксического прекодиционирования и инъекции ТСА. Выявлено принципиальное различие направленности экспрессии ГР в гиппокампе и сходство — в неокортексе.

Гиппокамп. Нейропротективный эффект гипоксического прекодиционирования сопровождался нормализацией экспрессии ГР в поле CA1 гиппокампа (Rybnikova et al., 2011), в то время как инъекция ТСА вызывала гиперэкспрессию ГР. Известно, что чрезмерная активация ГР увеличивает чувствительность нейронов гиппокампа к повреждающим воздействиям, в том числе эксайтотоксичности и ишемии, и приводит к их гибели (Sapolsky, 1985; Almeida et al., 2000). Стимуляция экспрессии ГР инъекциями ТСА при действии ТГГ может отражать прогрессирование патологических процессов в самой уязвимой к действию гипоксии области мозга — поле CA1 гиппокампа. Действительно, ТГГ в нашей модели градуально и длительно повышает уровень циркулирующих глюкокортикоидных гормонов вследствие недостаточности механизмов «обратной связи» (Рыбникова и др., 2008). Вместе с тем наблюдается массивная индукция апоптоза в нейронах поля CA1 гиппокампа (Рыбникова и др., 2004; Rybnikova et al., 2006). В этих условиях увеличение чувствительности нейронов поля CA1 к токсическому действию глюкокортикоидных гормонов, неизбежно возникающее при повышении содержания ГР, по всей видимости, является дезадаптивным. В связи с этим возможно, что применение ТСА в условиях ТГГ может оказывать не нейропротективный эффект, а, напротив, усугублять действие повреждающих факторов.

В отличие от CA1 поля гиппокампа зубчатая извилина является устойчивой к действию гипоксии областью (Lichtenwalner, Parent, 2006). Интересно, что в данном регионе гиппокампа существенных изменений как в степени ацетилирования НЗК9, так и в уровне экспрессии ГР не обнаруживалось, по всей видимости, зубчатая извилина не принимает участия в изучаемых процессах.

Неокортекс. Согласно современным представлениям, ГР неокортекса участвуют в регуляции гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС) (Boyle et al., 2005; Furay et al., 2008). При дефиците ГР-опосредуемой сигнализации нейронов фронтальной коры у мышей выявляются нарушения регуляции отрицательной обратной связи ГГАС и повышается уровень тревожности (Boyle et al., 2005). Таким образом, увеличение экспрессии ГР в неокортексе животных, получавших инъекцию ТСА, может вносить вклад в процессы торможения активности ГГАС, способствуя нормализации динамики активности ГГАС в ответ на ТГГ, то есть в данном отношении эффект ингибитора деацетилаз гистонов можно считать благоприятным.

В целом интерпретация эффектов ТСА на современном этапе затруднена из-за недостаточности литературных сведений, полученных на моделях *in vivo*, поэтому требуются дальнейшие исследования реакций на уровне

целого организма. В настоящей работе продемонстрировано, что ТСА может усиливать экспрессию гипоксия-индуцибельных белков, таких как ГР. При этом роль подобной ап-регуляции ГР неоднозначна, поскольку, с одной стороны, оверэкспрессия ГР может способствовать повреждению нейронов при действии ТГГ, как в поле CA1 гиппокампа, а с другой — улучшать торможение ГГАС по принципу отрицательной обратной связи, что может иметь место в неокортексе. Кроме того, известно, что для реализации последующего каскада внутриклеточных событий (активации ГР-зависимой транскрипции генов-мишеней) необходимо присутствие как ацетилтрансферазы гистонов, так и деацетилазы гистонов 4 и 6 (Kadiala et al., 2013). ТСА, являясь неселективным ингибитором, инактивирует деацетилазы гистонов 1-го и 2-го классов, к которым также относятся деацетилазы гистонов 4 и 6. Таким образом, одновременно с выявленной ап-регуляцией ГР ТСА может препятствовать транскрипции ГР-активируемых генов (Kadiala et al., 2013), т. е. возможно, что инъекции ТСА влияли не только на уровень экспрессии ГР, но также на транскрипцию ГР-зависимых генов, однако это предположение требует экспериментальной проверки. Возможно, это станет предметом дальнейших исследований, нацеленных на разработку терапевтических подходов с применением ингибиторов деацетилазы гистонов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 17-04-00624) и Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013—2020 гг. (ГП-14, раздел 65).

Список литературы

- Рыбникова Е. А., Миронова В. И., Пивина С. Г., Ордян Н. Э., Тюлькова Е. И., Самойлов М. О. 2008. Гормональные механизмы нейропротективных эффектов гипоксического preconditionирования у крыс. Докл. РАН. 421 (5) : 713—715. (Rybnikova E. A., Mironova V. I., Pivina S. G., Ordyan N. E., Tulkova E. I., Samoilo M. O. 2008. Hormonal mechanisms of neuroprotective effects of the mild hypoxic preconditioning in rats. Dokl. Biol. Sci. 421 : 239—240.)
- Рыбникова Е. А., Хожай Л. И., Тюлькова Е. И., Глуценко Т. С., Ситник Н. А., Пелто-Хьюкко М., Отеллин В. А., Самойлов М. О. 2004. Влияние гипобарической гипоксии на экспрессию белков ранних генов и структурные изменения нейронов мозга: корректирующий эффект preconditionирования. Морфология. 125 (2) : 10—15. (Rybnikova E. A., Khozhai L. I., Tiul'kova E. I., Glushchenko T. S., Sitnik N. A., Pelto-Huikko M., Otellin V. A., Samoilo M. O. 2004. Early genes expression, structural neuron changes in hypobaric hypoxia and correcting effect of preconditioning. Morfologiya. 125 (2) : 10—15.)
- Самойлов М. О. 1999. Мозг и адаптация. Молекулярно-клеточные механизмы. СПб.: Ин-т физиол. им. И. П. Павлова РАН. 272 с. (Samoilo M. O. 1999. Brain and adaptation. molecular-cellular mechanisms. St. Petersburg: I. P. Pavlov Institute of Physiol. 272 p.)
- Самойлов М. О., Рыбникова Е. А. 2012. Молекулярно-клеточные и гормональные механизмы индуцированной толерантности мозга к экстремальным факторам среды. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 98 (1) : 108—126. (Samoilo M. O., Rybnikova E. A. 2012. Molecular-cellular and hormonal mechanisms of induced brain tolerance of extreme factors. I. M. Sechenov. Russ. Physiol. J. 98 (1) : 108—126.)
- Almeida O., Conde G., Crochmore C., Demenieux B., Fischer D., Hassan A., Meyer M., Holsboer F., Michaelidis T. 2000. Subtle shifts in the ratio between pro- and antiapoptotic molecules after activation of corticosteroid receptors decide neuronal fate. FASEB. J. 14 : 779—790.
- Boyle M., Brewer J., Funatsu M., Wozniak D., Tsien J., Izumi Y., Muglia L. 2005. Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102 : 473—478.
- Braunstein M., Rose A. B., Holmes S. G., Allis C. D., Broach J. R. 1993. Transcriptional silencing in yeast is associated with reduced nucleosome acetylation. Genes Develop. 7 : 592—604.
- Furay A., Bruestle A., Herman J. 2008. The role of the forebrain glucocorticoid receptor in acute and chronic stress. Endocrinology. 149 : 5482—5490.
- Gibson C. L., Murphy S. P. 2010. Benefits of histone deacetylase inhibitors for acute brain injury; a systematic review of animal studies. J. Neurochem. 115 : 806—813.
- Grunstein M. 1997. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. Nature. 389 : 349—352.
- Hebbes T. R., Thorne A. W., Crane-Robinson C. 1988. A direct link between core histone acetylation and transcriptionally active chromatin. EMBO J. 7 : 1395—1402.
- Johnson A. B., Barton M. C. 2007. Hypoxia-induced and stress-specific changes in chromatin structure and function. Mutat. Res. 618 : 149—162.
- Kadiyala V., Patrick N. M., Mathieu W., Jaime-Frias R., Pookhao N., An L., Smith C. L. 2013. Class I lysine deacetylases facilitate glucocorticoid-induced transcription. J. Biol. Chem. 288 : 28 900—28 912.
- Kawahara N., Wang Y., Mukasa A., Furuya K., Shimizu T., Hamakubo T., Aburatani H., Kodama T., Kirino T. 2004. Genome-wide gene expression analysis for induced ischemic tolerance and delayed neuronal death following transient global ischemia in rats. J. Cereb. Blood Flow Metab. 24 : 212—223.
- Kim H. J., Rowe M., Ren M., Hong J. S., Chen P. S., Chuang D. M. 2007. Histone deacetylase inhibitors exhibit anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat permanent ischemic model of stroke: multiple mechanisms of action. J. Pharmacol. Exp. Ther. 321 : 892—901.
- Langley B., Brochier C., Riviello M. A. 2009. Targeting histone deacetylases as a multifaceted approach to treat the diverse outcomes of stroke. Stroke. 40 : 2899—2905.
- Lichtenwalner R. J., Parent J. M. 2006. Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. J. Cereb. Blood Flow Metab. 26 : 1—20.
- Ren M., Leng Y., Jeong M., Leeds P. R., Chuang D.-M. 2004. Valproic acid reduces brain damage induced by transient focal cerebral ischemia in rats: potential roles of histone deacetylase inhibition and heat shock protein induction. J. Neurochem. 89 : 1358—1367.
- Rybnikova E., Gluschenko T., Churilova A., Pivina S., Samoilo M. 2011. Expression of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in hippocampus of rats exposed to various modes of hypobaric hypoxia: putative role in hypoxic preconditioning. J. Brain Res. 1381 : 66—77.
- Rybnikova E., Sitnik N., Gluschenko T., Tjulkova E., Samoilo M. 2006. The preconditioning modified neuronal expression of apoptosis-related proteins of Bcl-2 superfamily following severe hypobaric hypoxia in rats. Brain Res. 1089 : 195—202.
- Samoilo M., Churilova A., Gluschenko T., Vetrov O., Dyuzhikova N., Rybnikova E. 2016. Acetylation of histones in neocortex and hippocampus of rats exposed to different modes of hypobaric hypoxia: implications for brain hypoxic injury and tolerance. Acta Histochem. 118 : 80—89.
- Sapolsky R. M. 1985. A mechanism for glucocorticoid toxicity in the hippocampus: increased neuronal vulnerability to metabolic insults. J. Neurosci. 5 : 1228—1232.
- Schweizer S., Meisel A., Marschenz S. 2013. Epigenetic mechanisms in cerebral ischemia. J. Cereb. Blood Flow Metab. 38 : 1335—1346.
- Shein N. A., Shohami E. 2011. Histone deacetylase inhibitors as therapeutic agents for acute central nervous system injuries. Mol. Med. 17 : 448—456.

Siesjo B., Wieloch T. 1985. Cerebral metabolism in ischemia: neurochemical basis for therapy. *Br. J. Anaesth.* 57 : 47—62.

Vogelauer M., Wu J., Suka N., Grunstein M. 2000. Global histone acetylation and deacetylation in yeast. *Nature.* 408 : 495—498.

Yildirim F., Gertz K., Kronenberg G., Harms C., Fink K. B., Meisel A., Endres M. 2008. Inhibition of histone deacetylation protects wildtype but not gelsolin-deficient mice from ischemic brain injury. *Exp. Neurol.* 210 : 531—542.

Поступила 5 VI 2018

THE EFFECT OF HISTONE DEACETYLASE INHIBITOR ON THE LEVELS OF GLUCOCORTICOID RECEPTOR EXPRESSION IN THE RAT FOREBRAIN UNDER HYPOXIA

A. V. Churilova,* T. S. Gluschenko, E. A. Rybnikova, M. O. Samoilo

Pavlov Institute of Physiology RAS, St. Petersburg, 199034;

* e-mail: annch05@mail.ru

Activity of gene transcription depends to a large extent on the histone acetylation status and can be affected by different stimuli such as hypoxia. Histone deacetylase inhibitors promote gene transcription by facilitating histone acetylation and thus are considered as a new candidates for target therapy of post-hypoxic states. In the present study, using immunohistochemistry, the effects of the histone deacetylase inhibitor triostatin A (TSA) on the levels of glucocorticoid receptor (GR) expression have been analyzed in the neocortex and hippocampus of rats in the original model of severe hypobaric hypoxia (SHH). It has been found that injections of TSA facilitated GR expression after SHH in the neocortex and CA1 field but not in the dentate gyrus of hippocampus of rats. Since GR overexpression is known to promote toxic action of the circulating glucocorticoid hormones on the hippocampal neurons, the stimulation of GR expression by TSA injections in the CA1 field of hippocampus may lead to maladaptation potentiating the detrimental impact of injurious factors such as hypoxia. The data obtained indicate that the therapy using histone deacetylase inhibitors may have unfavorable side effects for the vulnerable brain neurons.

Key words: histone deacetylase inhibitors, histone acetylation, glucocorticoid receptors, hypoxia, brain neurons

—