

УДК 576.08

ИСПЫТАНИЕ НОВОГО ИНДУКТОРА БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В КЛЕТОЧНОЙ МОДЕЛИ РЕАКЦИИ НА ЧЕРЕПНО-МОЗГОВУЮ ТРАВМУ

© 2019 г. В. Ф. Лазарев^{1, *}, Е. А. Дутышева¹, М. А. Тресцова², М. А. Микеладзе¹, И. А. Утепова^{2, 3}, О. Н. Чупахин^{2, 3}, И. В. Гужова¹, Б. А. Маргулис¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Уральский федеральный университет, Екатеринбург, 620002 Россия

³Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН, Екатеринбург, 620990 Россия

*E-mail: vl.lazarev@gmail.com

Поступила в редакцию 20.04.2019 г.

После доработки 27.05.2019 г.

Принята к публикации 29.05.2019 г.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) приводит к множественным патологическим процессам, затрагивающим различные клетки мозга. Одним из следствий ЧМТ и массивированной клеточной гибели может быть накопление в интерстициальной и спинномозговой жидкостях токсических факторов. Процесс накопления, вызывающий так называемое вторичное повреждение, не является скоротечным и протекает зачастую в течение дней и недель. Мы полагаем, что важную роль в снижении тяжести посттравматических патологических осложнений может играть белок Hsp70. Шаперон Hsp70 известен своей цитопротекторной активностью, и поэтому крайне перспективным может оказаться подход, предполагающий лекарственное повышение его концентрации в клетках, подверженных действию про-апоптозных и про-воспалительных факторов. В подтверждение этой гипотезы мы изучили влияние низкомолекулярного вещества КД-29, вызывающего синтез Hsp70 на клеточной модели посттравматического процесса. Суть использованной нами модели заключалась в цитотоксическом действии спинномозговой жидкости крыс, полученной после ЧМТ, на культуру клеток глиомы крысы С6. Мы установили, что препарат КД-29 значительно замедлил развитие процесса апоптоза и увеличил пролиферативную активность клеток С6 в условиях моделирования посттравматических процессов.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, Hsp70, шаперон, терапия, глиома крысы С6

DOI: 10.1134/S0041377119090086

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) — широкое понятие, объединяющее различные виды и степени тяжести механического повреждения черепа, мозговых тканей и оболочек, черепных нервов, церебральных сосудов. В России ежедневно фиксируется 300–400 случаев ЧМТ на 100 тыс. человек, нетрудоспособными по причине ЧМТ становятся 25%, а общая летальность от всех типов травм головы составляет 10%.

Неблагоприятные физиологические процессы во время восстановления после травмы головы могут быть причиной дополнительного повреждения головного мозга, называемого вторичным. Факторами, обуславливающими вторичное повреждение, являются изменения притока крови к мозгу, ишемия, церебральная гипоксия, отек мозга и повышенное внутричерепное давление (Smrcka et al., 2005). На клеточном уровне такими факторами являются появление активных форм кислорода и свободных радикалов, избыточный выброс нейромедиатора глутамата, приток ионов кальция и натрия в нейро-

ны и дисфункция митохондрий, что в конечном итоге приводит к запуску апоптоза (Hiebert et al., 2015; Quillinan et al., 2016).

В защите клеток от патогенных процессов важную роль играет белок теплового шока Hsp70, который участвует в блокировании разнообразных путей апоптоза, является ключевым элементом клеточной системы распознавания и деградации белков с нарушенной конформацией (Kim et al., 2013). Hsp70 предотвращает образование так называемых апоптосом, связывает апоптоз-индуцирующий фактор AIF и предотвращает клеточную гибель (Kroemer, 2001). Воспалительная реакция, как правило, сопровождающая болезнь Альцгеймера и другие нейродегенеративные патологии, также регулируется белком Hsp70, который через связь с рецепторами TLR2, TLR4 и SREC способен активировать работу системы врожденного иммунитета и (или) снижать реакцию на про-воспалительные цитокины (Gong et al., 2009). Другой механизм действия Hsp70 заключается в защите клеток от протеотоксического стресса путем

связывания мутантных неправильно свернутых белков и препятствования их агрегации (Duncan et al., 2015).

Недавно мы обнаружили, что спинномозговая жидкость (СМЖ) крыс, полученная после ЧМТ, вызывает гибель клеток глиомы крысы С6. Такое действие было обусловлено содержанием в СМЖ травмированных животных токсичных белковых комплексов (Lazarev et al., 2018). Кроме того, мы установили, что СМЖ, взятая у пациентов с болезнью Альцгеймера, является токсичной для клеток нейробластомы человека, и уровень токсичности возрастает с тяжестью заболевания, видимо, в связи с тем, что содержит продукты погибших клеток, агрегаты клеточных белков и т.д.

Мы предположили, что увеличение экспрессии в клетках мозга Hsp70 способно предотвратить их гибель, вызванную токсическим действием СМЖ, ослабив таким образом негативное действие вторичного повреждения после ЧМТ. Чтобы проверить эту гипотезу, мы использовали индуктор экспрессии Hsp70, выявленный нами при анализе библиотеки химических веществ Уральского федерального университета (УрФУ).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Клетки. Клетки глиобластомы крыс С6 были получены из Российской коллекции клеточных культур (ИНЦ РАН, Санкт-Петербург). Клетки культивировали в среде DMEM/F12 (Gibco, США), содержащей 10% бычьей эмбриональной сыворотки (FBS; Gibco, США), антибиотики пенициллин 100 ед./мл и стрептомицин 0.1 мг/мл (БиолоТ, Россия) при 37°C и 5% CO₂.

Индуктор синтеза Hsp70. Индуктор синтеза Hsp70 (вещество КД-29), относящийся к ряду пирролилазинов, был обнаружен в результате скрининга более 50 гетероциклических соединений из коллекции УрФУ с помощью репортерной системы. Репортерная система представляла собой клетки карциномы матки HeLa, несущие генетическую конструкцию с геном люциферазы под контролем промотора генов белков теплового шока HSE (heat shock element). Плазмида была предоставлена проф. Ричардом Моримото (Northwestern University, США). Клетки HeLa-luc инкубировали с веществами из коллекции в концентрации 1 мкМ в течение 24 ч, после чего активность люциферазы определяли с помощью набора BrightGlo (Promega, UK) и мультканального спектрофотометра Fluorophot Charity (ООО Пробнауч-прибор, Россия). Время измерения составляло 500 мс.

Одним из наиболее эффективных препаратов оказалось соединение КД-29, относящееся к ряду пирролилазинов. Это соединение было впервые синтезировано в УрФУ (Utepova et al., 2015).

Для того, чтобы подтвердить Hsp70-индуцирующие свойства КД-29, репортерную плазмиду вносили в клетки глиобластомы С6 с помощью трансфи-

цирующего реагента Lipofectamine 3000 (Thermo Fisher Scientific, США). Спустя 24 ч после трансфекции к клеткам С6-luc добавляли КД-29 в концентрации 0.2, 0.5 или 1 мкМ в течение 24 ч. Активность люциферазы определяли с помощью набора BrightGlo. В качестве положительного контроля для действия шаперон-индуцирующих препаратов мы использовали воздействие на клетки с помощью теплового шока. С этой целью клетки инкубировали при температуре 43°C в течении 30 мин.

Получение СМЖ в модели ЧМТ. Были использованы крысы Вистар весом 200–250 г. ЧМТ была выполнена по известному протоколу (Mychasiuk et al., 2014) с небольшими модификациями: высота падения груза на голову наркотизированных животных составляла 120 см (вместо 100 см) (Lazarev et al., 2018). Спустя 72 ч после ЧМТ производили забор СМЖ через большое затылочное отверстие. В качестве контрольной использовали СМЖ от не травмированных животных.

Вестерн-блот-анализ. Клетки глиобластомы крыс С6 культивировали в присутствии КД-29 в концентрации 0.2, 0.5 или 1 мкМ в течение 18 ч, лизировали, лизаты использовали для электрофореза и вестерн-блот-анализа. Блот последовательно инкубировали с антителами против Hsp70 клон 3C5 (Lasunskaja et al., 2010) и GAPDH (Клон 6C6, Abcam, Великобритания).

Определение физиологических характеристик клеток С6. Использовали следующие методы. 1) С помощью метода определения активности дегидрогеназ по Мосману (МТТ-тест) определяли возможную токсичность соединения КД-29. Клетки С6 культивировали с соединением КД-29 в концентрации 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 или 10.0 мкМ в течение 24 ч, после чего определяли уровень фармазана по стандартной методике (Mosmann, 1983). 2) Оценку пролиферации клеток С6 в режиме реального времени проводили с помощью прибора xCELLigence RTCA DP (ACEA Biosciences, Inc., США). Для анализа клеточного индекса в лунки 16-луночной Е-платы, на дне которых помещается золотой электрод, вносили клетки С6 (по 100 тыс./мл). Оценку клеточного индекса (измерение сопротивления клеток) проводили каждые 10 мин. Запись вели в течение 3 сут. Результаты анализировали с помощью программного обеспечения прибора xCELLigence RTCA DP, Software 1.2. 3) Для определения уровня апоптоза клетки С6 помещали в 96-луночный планшет для микротитрования и добавляли акридиновый оранжевый в фосфатно-солевом буфере в концентрации 5 мг/мл. Окрашенные клетки анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Zeiss AxioScope (Zeiss, Германия). Апоптотические клетки определяли, основываясь на таких морфологических критериях, как фрагментация ядра, блеббинг, распад на апоптосомы.

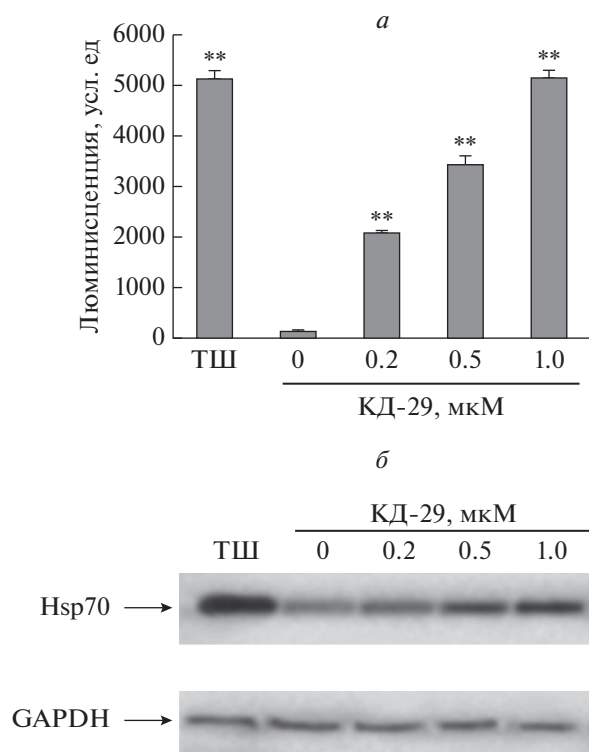


Рис. 1. Вещество КД-29 активирует промотор гена Hsp70 и вызывает накопление шаперона в клетках глиомы крысы С6. *а* – Клетки глиомы крысы С6, трансфицированные геном люциферазы под контролем промотора HSE подвергали действию вещества КД-29 в течение 24 ч, далее определяли ферментативную активность люциферазы. Тепловой шок (ТШ) использовали в качестве контрольного воздействия (оптимального активатора промотора HSE). Показаны средние значения и среднееквадратичное отклонение по результатам трех независимых экспериментов; различия с контролем достоверны (**) при $P < 0.01$ (критерий Манна–Уитни). *б* – В клетках глиомы крысы С6 с помощью вестерн-блот-анализа определяли уровень белка Hsp70 после культивирования с веществом КД-29 в различных концентрациях в течение 24 ч. ТШ был использован в качестве положительного контроля индукции синтеза шаперона Hsp70. Окраска на GAPDH проводилась для контроля белковой нагрузки.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вещество КД-29 вызывает активацию промотора HSE и накопление Hsp70 в клетках глиомы крысы. Для поиска индукторов экспрессии гена *hsp70* нами был проведен скрининг соединений из коллекции УрФУ. Для скрининга мы использовали тест-систему, основой которой были клетки карциномы шейки матки HeLa, трансфицированные геном люциферазы под контролем промотора HSE. Этот промотор активирует транскрипцию гена после взаимодействия с транскрипционным фактором HSF1, активация которого наступает в ответ на тепловой шок и иные факторы физико-химической природы. В результате скрининга нам удалось отобрать ряд соеди-

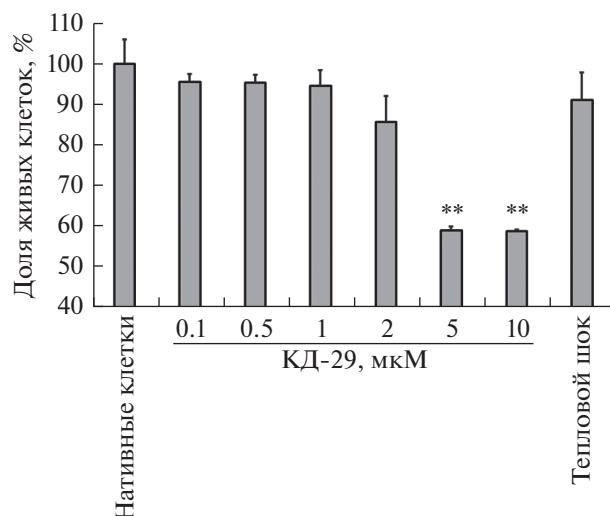


Рис. 2. Влияние КД-29 на жизнеспособность клеток С6 после 24-часового действия препарата КД-29 в различных концентрациях. Приведены данные МТТ-теста. Показаны средние значения и среднееквадратичное отклонение по результатам трех независимых экспериментов; различия с контролем достоверны (**) при $P < 0.01$ (критерий Манна–Уитни).

нений, которые вызывали накопление в клетках люциферазы. Одно из таких соединений – производное пирилизина КД-29. Результаты анализа активности люциферазы в клетках С6-luc в присутствии различных концентраций КД-29 представлены на рис. 1*а*. Из представленного рисунка видно, что активность люциферазы в клетках, обработанных КД-29 в концентрации 1 мкМ сопоставима с активностью люциферазы в клетках после теплового шока, что является эталонным показателем индукции белков теплового шока. Мы проанализировали влияние КД-29 на уровень внутриклеточного Hsp70 с помощью вестерн блоттинга. Культивирование клеток глиомы С6 в присутствии КД-29 в течение 18 ч приводило к значительному и дозозависимому увеличению количества белка Hsp70 в клетках (рис. 1*б*).

Цитотоксические свойства вещества КД-29. Для проверки влияния выбранного нами соединения на жизнеспособность клеток С6 мы использовали МТТ-тест. Оказалось, что в концентрациях, не превышающих 1 мкМ, КД-29 не вызывает сколько-нибудь значимых изменений в жизнеспособности клеток глиомы крысы С6 (рис. 2). При этом КД-29 в концентрации 2 мкМ приводит к снижению числа живых клеток приблизительно на 17%.

КД-29 повышает устойчивость клеток глиомы крысы С6 к токсичному действию СМЖ от травмированных крыс. Целью следующего этапа нашей работы было выяснить, токсична ли СМЖ травмированных животных и может ли активация Hsp70 вследствие культивирования с КД-29 повысить выживаемость клеток С6. Мы использовали СМЖ, полученную от

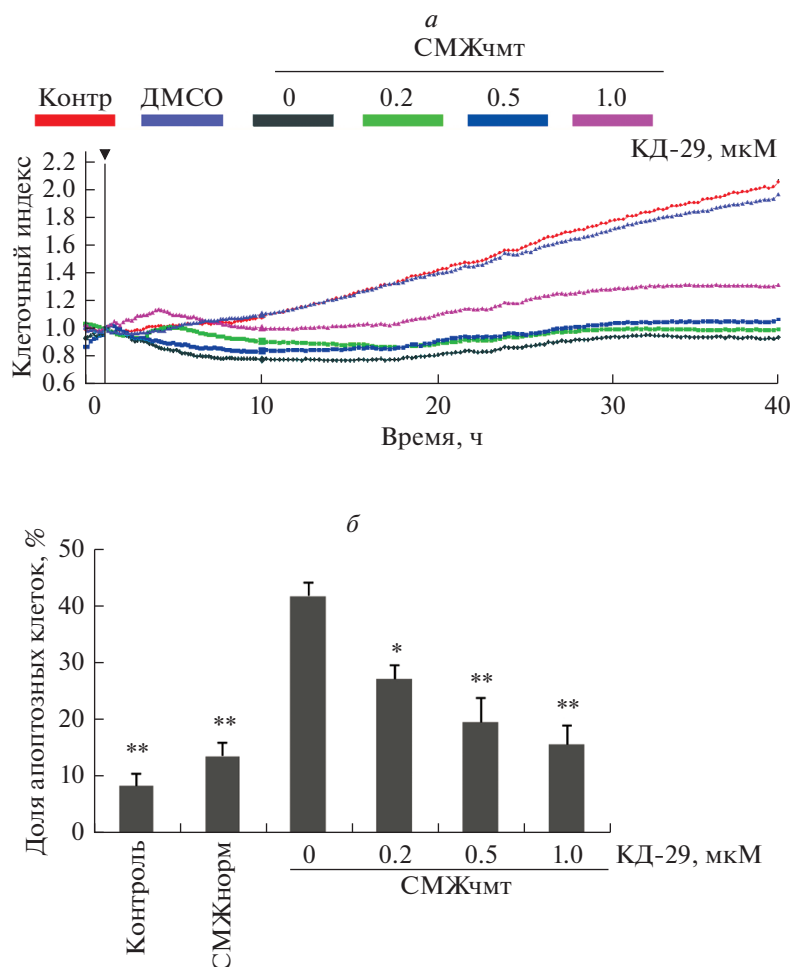


Рис. 3. Влияние КД-29 на жизнеспособность клеток С6 в присутствии спинномозговой жидкости (СМЖ) травмированных крыс. *а* — Значения клеточного индекса в зависимости от времени, полученные с помощью аппарата xCelligence. Клетки культивировали в присутствии 50% СМЖ травмированных крыс (СМЖчмт) и КД-29 в различной концентрации. Данные о культивировании клеток с ДМСО в разведении 0.005% приведены в качестве контроля к действию КД-29, стоковый раствор которого приготовлен в ДМСО. Цвет кривой соответствует воздействию. *б* — Данные анализа доли апоптозных клеток, полученные с помощью окраски акридиновым оранжевым. Окраску клеток проводили спустя 12 ч после добавления СМЖчмт или СМЖнорм. КД-29 в различных концентрациях добавляли одновременно с СМЖ. Показаны средние значения и средне-квадратичное отклонение по результатам трех независимых экспериментов; различия с действием СМЖ травмированных крыс достоверны при $*P < 0.05$ и $**P < 0.01$ (критерий Манна-Уитни).

животных спустя 72 ч после ЧМТ. СМЖ для культивирования смешивали со стандартной ростовой средой в объемном соотношении 1 : 1. КД-29 применяли в диапазоне концентраций от 0.2 до 1 мкМ. Анализ изменения клеточного индекса, проведенный с помощью системы xCelligence, показал, что КД-29 в концентрации 1 мкМ подавляет токсичное действие СМЖ, при этом абсолютное значение клеточного индекса увеличивается с 0.9 до 1.3, в то время как в норме (без добавления СМЖ) он составлял 1.9 (рис. 3а). Анализ количества апоптозных клеток в условиях культивирования с СМЖ травмированных животных, проведенный с помощью окраски акридиновым оранжевым, также продемонстрировал эффективность применения КД-29 в качестве активатора защитной системы клеток. СМЖ, полученная от травмированных животных (СМЖчмт) вызвала гибель

по механизму апоптоза у 41.7% клеточной популяции, в то время как в результате культивирования с СМЖ, полученной от нетравмированного животного (СМЖнорм), погибло всего 13.6% клеток. Культивирование клеток с соединением КД-29 дозозависимым образом снижало чувствительность клеток С6 к токсическому действию СМЖчмт. Применение КД-29 в концентрации 1 мкМ снизило долю апоптозных клеток в популяции до 15.5%, т.е. до величины, близкой к популяции, которая была инкубирована с СМЖнорм (рис. 3б).

ОБСУЖДЕНИЕ

После травмы головного мозга у человека происходит нарушение гематоэнцефалического барьера, и клетки микроглии, моноциты, макрофаги и нейтро-

фили проникают в различные области мозга (Corps et al., 2015). Это ведет к воспалительной реакции, которая может сохраняться годами и в конечном итоге способствует нейродегенерации. Кроме того, в результате первичной ЧМТ наблюдается явление так называемой сверх-возбудимости рецепторов NMDA и AMPA глутаматом, что приводит к запуску процесса апоптоза (Quintard et al., 2015), появлению активных форм кислорода, также запускающих процессы клеточной гибели (Khatiri et al., 2018). Таким образом, в результате вышеописанных последствий ЧМТ происходит гибель части популяции клеток мозга, и содержимое погибших клеток может поступать в межклеточное пространство, а затем, благодаря тому, что ликворо-энцефалатический барьер также нарушен, может сливаться в СМЖ вместе с интерстициальной жидкостью (Николенко и др., 2018). Это ведет к гибели все новых популяций нейронов, что приводит к масштабной нейродегенерации у травмированных пациентов. Поэтому поиск препаратов, которые могут защитить нервные клетки от внешних повреждающих факторов является приоритетной задачей специалистов в области травматологии.

Один из наиболее известных молекулярных шаперонов — Hsp70 — участвует в созревании вновь синтезированных клеточных полипептидов и в очистке клетки от необратимо денатурированных белков. Hsp70 является основой разнообразных систем, защищающих клетки от вредного воздействия окислительного стресса, и от множества факторов химической и физической природы (Calabrese et al., 2010). Ввиду цитопротекторной активности Hsp70 многие группы исследователей проводят поиск безопасных и специфических активаторов HSF1, значимых с точки зрения терапии нейродегенеративных процессов. Одним из таких индукторов явилось производное эхинохрома морского ежа, U-133, которое показало эффективность в терапии клинических проявлений болезни Паркинсона (Ekimova et al., 2018). В течение последних 20 лет разработано около 10 активаторов HSF1, которые с разным успехом использовали в моделях нейродегенеративных заболеваний (Neef et al., 2011).

Настоящая работа была направлена на анализ активности подобных соединений для последующего применения их в терапии пост-травматических осложнений. Нам удалось создать простую и надежную тест-систему на основе клеток глиомы крысы, инкубируемых с СМЖ травмированных животных. Эта тест-система позволяет регистрировать защитные свойства исследуемых химических соединений. Насколько нам известно, подобные тест-системы в практике изучения последствий ЧМТ не используются. Выбранное в качестве модели вещество КД-29 инициировало защитную систему клеток, по-видимому, связанную с шапероном Hsp70, и одновременно представило собой пример фактора для терапии последствий травм головы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность Е.Р. Михайловой (Институт цитологии РАН) за участие в скрининге химических соединений из библиотеки УрФУ.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 18-74-10087.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты на животных были одобрены этическим комитетом Института цитологии РАН и Институтом здоровья NIH, Бетезда, Мэрилэнд, США (Регистрационный номер F18-00380).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Николенко В.Н., Оганесян М.В., Яхно Н.Н., Орлов Е.А., Порубаева Е.Е., Попова Е.Ю. 2018. Глимфатическая система головного мозга: функциональная анатомия и клинические перспективы. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 10 : 94–100. (Nikolenko V.N., Oganessian M.V., Yakhno N.N., Orlov E.A., Porubayeva E.E., Popova E.Yu. 2018. The brain's glymphatic system: physiological anatomy and clinical perspectives. Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 10 : 94–100)
- Calabrese V., Cornelius C., Mancuso C., Lentile R., Stella A.M.G., Butterfield D.A. 2010. Redox homeostasis and cellular stress response in aging and neurodegeneration. Methods Mol. Biol. 610 : 285–308.
- Corps K.N., Roth T.L., McGavern D.B. 2015. Inflammation and Neuroprotection in Traumatic Brain Injury. JAMA Neurol. 72 : 355–362.
- Duncan E.J., Cheetham M.E., Chapple J.P., van der Spuy J. 2015. The Role of HSP70 and Its Co-chaperones in Protein Misfolding, Aggregation and Disease. Subcell Biochem. 78 : 243–273.
- Ekimova I.V., Plaksina D.V., Pastukhov Y.F., Lapshina K.V., Lazarev V.F., Mikhaylova E.R., Polonik S.G., Pani B., Margulis B.A., Guzova I.V., Nudler E. 2018. New HSF1 inducer as a therapeutic agent in a rodent model of Parkinson's disease. Exp. Neurol. 306 : 199–208
- Gong J., Zhu B., Murshid A., Adachi H., Song B., Lee A., Liu C., Calderwood S.K. 2009. T cell activation by heat shock protein 70 vaccine requires TLR signaling and scavenger receptor expressed by endothelial cells-1. J. Immunol. 183 : 3092–3098.
- Hiebert J. B., Shen Q., Thimmesch A. R., Pierce J. D. 2015. Traumatic Brain Injury and Mitochondrial Dysfunction. Am. J. Med. Sci. 350: 132–138.
- Khatiri N., Thakur M., Pareek V., Kumar S., Sharma S., Datsalia A.K. 2018. Oxidative Stress: Major Threat in Traumatic Brain Injury. CNS Neurol. Disord. Drug Targets. 17 : 689–695.

- Kim Y.E., Hipp M.S., Bracher A., Hayer-Hartl M., Hartl F.U. 2013. Molecular Chaperone Functions in Protein Folding and Proteostasis. *Annu. Rev. Biochem.* 82 : 323–355.
- Kroemer G. 2001. Heat Shock Protein 70 Neutralizes Apoptosis-Inducing Factor. *Sci. World J.* 1 : 590–602.
- Lasunskaja E.B., Fridlianskaia I., Arnoldt A.V., Kanashiro M., Guzhova I.V., Margulis B.A. 2010. Sub-lethal heat shock induces plasma membrane translocation of 70-kDa heat shock protein in viable, but not in apoptotic, U-937 leukaemia cells. *APMIS.* 118 : 179–187.
- Lazarev V.F., Dutysheva E.A., Komarova E.Y., Mikhaylova E.R., Guzhova I.V., Margulis B.A. 2018. GAPDH-targeted therapy – A new approach for secondary damage after traumatic brain injury on rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 501 : 1003–1008.
- Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* 65 : 55–63.
- Mychasiuk R., Farran A., Angoa-Perez M., Briggs D., Kuhn D., Esser M.J. 2014. A novel model of mild traumatic brain injury for juvenile rats. *J. Vis. Exp.* 94. <https://doi.org/10.3791/51820>
- Neef D.W., Jaeger A.M., Thiele D.J. 2011. Heat shock transcription factor 1 as a therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 10 : 930–944.
- Quillinan N., Herson P.S., Traystman R.J. 2016. Neuropathophysiology of Brain Injury. *Anesthesiol. Clin.* 34 : 453–464.
- Quintard H., Patet C., Suys T., Marques-Vidal P., Oddo M. 2015. Normobaric hyperoxia is associated with increased cerebral excitotoxicity after severe traumatic brain injury. *Neurocrit. Care* 22 : 243–250.
- Smrcka M., Vidlák M., Máca K., Smrcka V., Gál R. 2005. The influence of mild hypothermia on ICP, CPP and outcome in patients with primary and secondary brain injury. *Acta Neurochir. Suppl.* 95 : 273–275.
- Utepova I.A., Trestsova M.A., Chupakhin O.N., Charushin V.N., Rempel A.A. 2015. Aerobic oxidative C–H/C–H coupling of azaaromatics with indoles and pyrroles in the presence of TiO₂ as a photocatalyst. *Green Chem.* 17 : 4401–4410.

TESTING OF THE NEW HEAT SHOCK PROTEIN INDUCTOR IN THE CELLULAR MODEL OF REACTION TO THE TRAUMATIC BRAIN INJURY

V. F. Lazarev^{a, *}, E. A. Dutysheva^a, M. A. Trestsova^b, M. A. Mikeladze^a, I. A. Utepova^{b, c},
O. N. Chupakhin^{b, c}, I. V. Guzhova^a, and B. A. Margulis^a

^aInstitute of Cytology Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia

^bUral Federal University, Ekaterinburg, 620002 Russia

^cPostovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, 620990 Russia

*E-mail: vl.lazarev@gmail.com

Traumatic brain injury (TBI) leads to multiple pathological processes at the cellular level. One of the results of TBI and massive cell death can be accumulation in interstitial and cerebrospinal fluids of toxic factors. Such process causing secondary damage is not transient and often lasts over days and weeks. We suggest that the Hsp70 protein can play an important role in the reduction of post-traumatic pathologic complications. Chaperone Hsp70 is known by its cytoprotective activity, and therefore the approach suggesting the elevation of the protein concentration in cells responding to apoptotic or inflammatory stimuli may be promising. To prove that, we tested the effect of the low molecular weight substance KD-29 inducing Hsp70 synthesis on the C6 rat glioma cells reaction to the cytotoxicity of cerebrospinal fluid from rats after TBI. KD-29 significantly reduced apoptosis and increased the proliferative activity of cells under the conditions of post-traumatic process modeling.

Keywords: traumatic brain injury, Hsp70, chaperone, therapy, rat glioma C6