

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
РАБОТЫ

УДК 611.81.013

**ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА СОДЕРЖАНИЕ
НЕЙРОНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЕНОЛАЗЫ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО
МОЗГА И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

© 2020 г. А. Ю. Морозова¹, А. В. Арутюнян^{1, 4, *}, Ю. П. Милютин¹,
П. Ю. Морозова³, Л. С. Козина⁴, И. А. Журавин²

¹Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии
им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию 18.11.2019 г.

После доработки 22.12.2019 г.

Принята к публикации 27.12.2019 г.

В работе исследовалась динамика изменения содержания нейронспецифической енолазы (NSE – КФ 4.2.1.11) в гиппокампе, коре и мозжечке крыс на 5-й, 10-й, 30-й дни постнатального развития, а также в их сыворотке крови. Показано, что содержание NSE в течение первого месяца жизни возрастает в несколько раз во всех изученных структурах, как после перенесенной гипоксии, так и в группе животных, не подвергавшихся гипоксическому воздействию. Установлено, что пренатальная гипоксия на 14-й день эмбрионального развития приводит к достоверным изменениям содержания NSE во всех изученных структурах головного мозга. В сыворотке крови содержание данного фермента возрастает на 5-й, 10-й, 30-й дни жизни у подопытных животных в сравнении с контрольной группой. Таким образом, недостаток кислорода оказывает влияние на содержание данного фермента как в структурах мозга, так и в сыворотке крови крыс, что дает возможность судить о выживаемости нейронов в условиях пренатальной гипоксии, а также позволяет предложить использовать этот показатель в качестве маркера нарушения ЦНС плода при воздействии гипоксии в период пренатального развития.

Ключевые слова: пренатальная гипоксия, нейроспецифические белки, нейронспецифическая енолаза (NSE), гиппокамп, кора, мозжечок, сыворотка крови, ранний онтогенез

DOI: 10.31857/S1027813320030085

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие наблюдается рост нервно-психических заболеваний, развитие которых связано с патологическими процессами, протекающими в период эмбрионального развития. Наиболее высока частота неблагоприятных последствий у детей с синдромом задержки внутриутробного развития (ЗВУР). К одним из факторов, ведущих к формированию ЗВУР, относится осложнение беременности развитием хронической плацентарной недостаточности, при которой плод развивается в условиях гипоксии, от длительности которой, а также от сроков беременности, на которых она протекает, зависит формирование центральной нервной системы (ЦНС) новорожденно-

го. Дети с ЗВУР характеризуются нарушением двигательных функций, сниженной способностью к обучению, гиперактивностью, невнимательностью и другими когнитивными нарушениями. В настоящее время предпринимаются попытки посредством использования экспериментальных моделей оценить последствия пренатальной гипоксии.

Так показано, что гипоксия запускает ряд молекулярных процессов, таких как деполяризация мембран, увеличение содержания внутриклеточного кальция, возрастание выброса и подавление обратного захвата нейромедиаторов, продукция свободных радикалов, которые участвуют в повреждении нейронов и их гибели. Наряду с данными процессами при гипоксии начинают функционировать компенсаторные механизмы, которые обеспечивают защиту головного мозга и организма в целом от недостатка кислорода. Пренатальная гипоксия, встречающаяся при беременности, вызывает нару-

* Адресат для корреспонденции: 199034 Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3; e-mail: alexarutunjan@gmail.com.

шение развития ЦНС у плода [1], что может быть связано с изменением содержания различных нейроспецифических и нейротрофических белков в таких отделах развивающегося мозга, как гиппокамп, кора и мозжечок [2], отвечающих за когнитивные и двигательные функции организма. В экспериментальных исследованиях показано, что нарушение функционирования данных структур мозга проявляется в компенсируемых изменениях двигательных реакций и когнитивных дисфункциях в процессе взросления [3].

Особое внимание в этом аспекте вызывает изучение одного из нейроспецифических белков, такого как нейроспецифическая енолаза (NSE), обладающая нейротрофическими и нейропротективными свойствами по отношению к широкому спектру нервных клеток в ЦНС [4, 5]. Молекулярная масса нативной енолазы составляет 80–95 кДа, и фермент существует в виде нескольких димерных изоферментов ($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$, $\beta\beta$ и $\gamma\gamma$), образованных из трех субъединиц α , β и γ . NSE является изоферментом в виде гомодимера $\gamma\gamma$ [6] и относится к гликолитическим ферментам класса лиаз, катализирующим обратимую реакцию отщепления воды от 2-фосфо-D-глицерата с образованием макроэргического соединения фосфоенолпирувата. Таким образом, данный фермент участвует в катализе реакции гликолиза, который является основным механизмом генерации энергии нейронами. NSE относится к внутриклеточным энзимам головного мозга, определяется в нейронах, глиальных клетках, нейроэндокринных клетках, присутствует в следовых количествах в тромбоцитах и является общим маркером всех дифференцированных нейронов [4, 7]. Локализация NSE как в нейронах, так и глие (олигодендроцитах, астроцитах и микроглиальных клетках), указывает на то, что она наряду с участием в реакциях нейровоспаления, может выполнять также нейротрофическую роль [5]. Известно, что NSE наилучшим образом характеризует целостность мембран гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), и определение ее содержания применяется для диагностики острых состояний, связанных с нарушением ГЭБ, таких как церебральная ишемия и гипоксия головного мозга [8, 9]. В связи с тем, что пренатальная гипоксия рассматривается в настоящий момент, как основной патологический фактор, ведущий к ЗВУР у новорожденных детей, то изучение ее влияния на содержание NSE в структурах, участвующих в формировании когнитивных и двигательных функций, а также в сыворотке крови животных с использованием модели пренатальной гипоксии, представляет собой интерес не только в рамках фундаментального исследования, но и в научно-практическом отношении, т.к. содержание NSE можно рассматривать, как биохимический показатель состояния головного мозга у потомства,

определяющий выживаемость нервных клеток в условиях пренатальной гипоксии.

Целью данной работы явилось исследование содержания NSE в гиппокампе, коре и мозжечке, а также в сыворотке крови крыс в раннем онтогенезе при пренатальной гипоксии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали крыс линии Wistar разного возраста из вивария Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, как перенесших пренатальную гипоксию, так и не подвергавшихся ей (контрольная группа). Все исследования выполнялись с соблюдением утвержденных международных правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [10] и в соответствии с рекомендациями этического комитета ИЭФБ РАН.

Для получения группы животных, перенесших пренатальную гипоксию, беременные самки крыс на 14-й день развития плода (E14) подвергались действию нормобарической гипоксии в камере, емкость которой составляла 100 л, оснащенной системой вентиляции, терморегуляции, и адсорбции выдыхаемого CO_2 , а также газовым анализатором. В ходе эксперимента содержание O_2 снижалось с 21 до 7% в течение 10 мин, и удерживалось на этом уровне 3 часа. В эксперименте нами были использованы крысы из потомства гипоксических и контрольных животных в возрасте 5-ти, 10-ти, 30-ти дней. Число крыс в каждой группе составляло не менее 6 животных.

На указанных сроках жизни животных депитировали и извлекали мозг на холоде ($+4^\circ\text{C}$). Зону, соответствующую коре, гиппокампу и мозжечку, извлекали согласно атласу (The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates). Образцы сыворотки крови получали посредством отстаивания крови в течение 30 мин при 37°C и в последующем центрифугировании при 2500 об./мин в течение 20 мин. В случае необходимости повторного исследования образцы замораживались и хранились при -80°C .

Определение содержания NSE проводилось с использованием тест-системы "CanAg NSE EIA", которая основана на твердофазном, неконкурентном иммуноферментном анализе. Использовали два типа моноклональных мышинных антител, которые направлены на различные антигенные детерминанты в молекуле NSE. Используемые моноклональные антитела связываются с γ -субъединицей фермента и детектируют ее $\gamma\gamma$ - и $\alpha\gamma$ -формы. Следует отметить, что в этих условиях наряду с NSE, определяется ненейрональная форма фермента NNE (α -енолаза). Сыворотку и стандарты инкубировали вместе с биотинилированными анти-NSE антителами и моноклональными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена в ячейках

Таблица 1. Содержание NSE в структурах головного мозга контрольных и опытных крысят в первый месяц жизни

Структура головного мозга	День жизни животного	NSE, мкг/мкг белка	
		контроль	опыт
Гиппокамп	5	15.35 ± 1.35	9.60 ± 0.79*
	10	38.35 ± 12.57	7.25 ± 0.93*
	30	303.50 ± 56.07^^	117.19 ± 5.98*#
Кора	5	0.45 ± 0.03	0.15 ± 0.03**
	10	4.1 ± 0.67	1.36 ± 0.21**
	30	79.3 ± 3.9^^	111.4 ± 5.97** #
Мозжечок	5	0.6 ± 0.11	0.2 ± 0.04^
	10	6.29 ± 0.73	2.13 ± 0.4^
	30	140.5 ± 7.7^^	91.85 ± 11.32^ #

^^ Достоверность различий NSE в течение первого месяца жизни контрольных животных, где $p < 0.05$;

достоверность различий NSE в течение первого месяца жизни опытных животных, где $p < 0.05$;

* достоверность различий содержания NSE в гиппокампе крыс контрольной группы и группы, перенесшей гипоксию, где $p < 0.05$;

** достоверность различий содержания NSE в коре крыс контрольной группы и группы, перенесшей гипоксию, где $p < 0.05$;

^ достоверность различий содержания NSE в мозжечке крыс контрольной группы и группы, перенесшей гипоксию, где $p < 0.05$.

микропланшета, которые покрыты стрептавидином. Затем в каждую ячейку добавляли раствор субстрата (перекись водорода и 3,3',5,5'-тетраметилбензидин). В результате реакции развивается голубая окраска. После этого реакцию останавливали стоп-раствором (0.12 М HCl) и интенсивность окрашивания измеряли на спектрофотометре BioTek EL-808 при длине волны 405 нм. Интенсивность окраски пропорциональна количеству NSE, которая присутствует в образце. Концентрацию NSE в образцах рассчитывали по калибровочной кривой и выражали в мкг/мкг белка. Количество белка определяли методом Бредфорд [11]. Интенсивность окраски измеряли фотометрически при длине волны 595 нм. Стандартная кривая строилась с использованием γ -глобулина (мкг/мл). Чувствительность метода составляет 5–20 мкг белка/мл.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica for Windows 6.0 (StatSoft). Для оценки достоверности полученных различий использовали критерии t-Стьюдента и поправку Бонферрони. Данные считались досто-

верными при $p < 0.05$. Результаты представлены как $M \pm m$ (среднее \pm ошибка среднего).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение постнатального периода развития содержание NSE резко возрастала как у контрольных, так и у подвергнутых пренатальной гипоксии животных к концу первого месяца жизни во всех изученных структурах, о чем свидетельствуют данные, представленные в табл. 1, а именно, у контрольных животных содержание NSE в гиппокампе повышалась в 19.7 раз к 30-му дню жизни, в коре и мозжечке также увеличивалось в десятки раз по сравнению с 5-м днем жизни, где обнаруживались следовые количества фермента.

Аналогичная тенденция наблюдается в изменении содержания фермента у подопытных животных, а именно в гиппокампе содержание NSE возрастало в 12 раз к концу первого месяца, а в коре и мозжечке повышалось также, как у контрольных животных в десятки раз. Важно отметить, что наибольшее содержание NSE наблюда-

Таблица 2. Содержание NSE в сыворотке крови контрольных и опытных крысят в первый месяц жизни

Группа	NSE, мкг/мл		
	5-й д. ж.	10-й д.ж.	30-й д.ж.
Контроль	0.25 ± 0.008	0.40 ± 0.02	0.60 ± 0.02#
Гипоксия	1.09 ± 0.08*	3.95 ± 0.17*	11.57 ± 1.50*^

Достоверность различий NSE в течение первого месяца жизни контрольных животных, где $p < 0.05$;

^ достоверность различий NSE в течение первого месяца жизни подопытных животных, где $p < 0.05$;

* достоверность различий содержания NSE в сыворотке крови крыс контрольной группы и группы, перенесшей гипоксию, где $p < 0.05$.

лось в гиппокампе контрольных и подопытных животных.

У крысят, перенесших пренатальную гипоксию, содержание NSE снижалось на 5-й день жизни в гиппокампе в 1.6, в коре и мозжечке в 3 раза по сравнению с контрольной группой животных. На 10-й день жизни оно понижалось в гиппокампе в 5, в коре и мозжечке в 3 раза, а на 30-й день жизни тенденция к изменению содержания NSE несколько выравнивалось по сравнению с контрольной группой, тем не менее, оставаясь весьма существенной в гиппокампе, где содержание фермента более, чем в 2.5 раза было снижено у подопытной группы животных по сравнению с контрольной (табл. 1).

Оценив изменения в структурах мозга крыс, нами было изучено влияние гипоксии на содержание NSE в сыворотке крови животных (табл. 2).

Показано, что содержание данного фермента возрастало к 30-му дню жизни как в контрольной группе крыс, так и в подопытной в 2.4 и 10 раз соответственно. Пренатальная гипоксия приводила к повышению данного показателя на всех изученных сроках жизни, а именно на 5-й день жизни содержание NSE возрастало в 4.4 раза, на 10-й день — в 9.8 раз, а в конце первого месяца жизни в — 19 раз по сравнению с контрольными животными.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что нейроспецифические белки, в частности NSE, обладают нейротрофическими и нейропротекторными свойствами в отношении большого спектра нервных клеток в ЦНС [5]. В экспериментальных исследованиях показано, что NSE способствует выживаемости ряда структур головного мозга (неокортекса) при патологии посредством Ca^{2+} -опосредованного механизма, а также в последнее время укрепляется точка зрения о существовании собственного гликолитического пути в

нейронах, все это позволяет рассматривать NSE в качестве высокоспецифичного маркера нейронов [6]. Пренатальная гипоксия является одним из патологических факторов, влияющих на формирование ЦНС у потомства, и чаще всего патологические изменения при недостатке кислорода отмечаются в структурах, задействованных в формировании когнитивных и двигательных функций [12–15], а именно в коре и гиппокампе, ответственных за обучение и память [16, 17] и в мозжечке, отвечающем за двигательные функции, которые нарушаются не только у животных, но также и у детей с ЗВУР. В связи с выше перечисленным, особый интерес вызывает изучение изменения NSE в данных структурах головного мозга на экспериментальной модели. В нашей работе используется модель пренатальной гипоксии E14, т.к. именно к концу второй недели и первых дней третьей недели эмбриогенеза наблюдается максимальная пролиферативная активность клеток головного мозга: начинается генерация крупных нейронов мозжечка, гиппокампа и коры.

14-й день эмбрионального развития для гипоксического воздействия выбран в связи с тем, что пролиферативная активность клеток головного мозга достигает максимума к концу второй недели внутриутробного развития и затем снижается [3, 18, 19]. В этот период начинается генерация клеток в новой коре, гиппокампе и мозжечке [18], т.е. гипоксическое воздействие на исследуемые структуры оказывалось нами в критические сроки их формирования, в то время, когда они наиболее уязвимы.

Выбор указанных сроков в постнатальном онтогенезе был обусловлен следующими факторами: 5-й день — это завершение миграции нейробластов, нейритогенез, 10-й день — начало миелинизации, максимальный кровоток, синаптогенез, с 10-го по 20-й день жизни протекает активная миелинизация, идет формирование синаптических структур, про-

должается пролиферация нейронов и глиальных клеток. Дифференцировка и созревание нейронов обеспечивается интенсивным синтезом белков и липидов, многие из которых нейроспецифические, а также синтезом ростовых факторов и медиаторов, что сопровождается увеличением массы головного мозга животных. На 30-й день происходит завершение интенсивного формирования ЦНС [20].

При изучении уровня NSE в гиппокампе, коре и мозжечке в онтогенетическом периоде с 5-го по 30-й день жизни нами было выявлено резкое возрастание его содержания во всех отделах, что согласуется с работами, в которых исследовалась динамика изменения концентрации данного фермента с 1-го дня по 30-й мес. жизни в различных структурах головного мозга мышей, причем следует отметить, что наибольшее возрастание этого показателя отмечалось, начиная с 3-й недели вплоть до 6-го месяца жизни животных [21, 22]. Можно полагать, что вклад ненейрональной α -формы фермента в изменение содержания NSE в указанные сроки крайне незначителен, поскольку она содержится преимущественно в мозге эмбрионов и элиминируется в постнатальном периоде по мере созревания нейронов [23]. Обнаруженная динамика увеличения содержания NSE в контрольных и подопытных группах крыс также соответствует ранее полученным результатам, согласно которым уровень содержания другого нейроспецифического белка S-100 при гипоксии возрастает во всех изученных структурах мозга [2], что свидетельствует о важной роли белков S-100 и NSE в поддержании нормального функционирования головного мозга.

Проведенный анализ полученных результатов показал, что патологическое воздействие пренатальной гипоксии в период первого месяца жизни крыс приводит к уменьшению содержания NSE в коре и гиппокампе подопытных животных, что согласуется с ранее полученными нами данными о достоверном снижении при гипоксии уровня таких нейротрофических белков, как BDNF и NGF и S-100 [2]. Такие изменения в содержании выше указанных показателей могут приводить к нарушению выполнения функций данных белков и влиять на формирование синаптической пластичности и целостность нейронов в изученных структурах головного мозга. Так, установлено, что у животных E14, подвергнутых пренатальной гипоксии, снижено количество лабильных шипиков в гиппокампе, что авторы связывают с нарушением пластичности нейронных сетей [16]. Аналогичные изменения в биохимических показателях наблюдались нами и в мозжечке, что свидетельствует о биохимическом проявлении нарушения функций данной структуры. В литературе показано, что гипоксия во время внутриутробного развития приводит к структурным нарушениям мозжечка [14], что со-

провождается изменениями в поведении животных [3]. Исходя из полученных данных в данном эксперименте и ранее, можно заключить, что пренатальная гипоксия сопровождается изменением содержания нейротрофических и нейроспецифических белков во всех изученных структурах, что может приводить к нарушению развития нейронов, глиальных клеток, разрастания дендритных окончаний и формирования синаптических контактов в головном мозге.

Известно, что морфофункциональные изменения нейронов и глиальных клеток при различных вариантах гипоксического воздействия приводят к нарушению целостности ГЭБ, что сопровождается высвобождением в кровь нейроспецифических ферментов и их изоформ. Таким образом, определение в нашем эксперименте NSE в сыворотке крови позволяет оценить интенсивность повреждения ЦНС у экспериментальных животных. Нами показано, что пренатальная гипоксия приводит к достоверному возрастанию содержания NSE на всех изученных сроках в сыворотке крови, что свидетельствует о повреждении нейронов и нарушении ГЭБ в головном мозге крыс после перенесенной пренатальной гипоксии. Можно предположить выход NSE в этих условиях в кровоток, что обуславливает возможность использования данного показателя в качестве маркера гипоксического повреждения головного мозга, как это принято в отношении определения NSE в крови при различных нейродегенеративных заболеваниях [5, 24, 25]. Изменения, полученные в сыворотке крови крыс, согласуются с выше описанными данными, при которых наблюдается снижение NSE в структурах головного мозга, возможно связанное с отставанием развития нервной системы, и проявляется в нарушении двигательных и когнитивных функций, а именно обучения и памяти в раннем онтогенезе животных, что подтверждается исследованиями с использованием физиологических тестов [3, 4, 16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, пренатальная гипоксия (E14) сопровождается достоверным изменением содержания NSE в гиппокампе, коре и мозжечке головного мозга животных, что может быть одной из причин отставания развития нервной системы в раннем онтогенезе и нарушения поведения животного на более поздних сроках жизни. Обнаруженное достоверное повышение содержания NSE в сыворотке крови опытных животных свидетельствует о нарушении целостности ГЭБ и дает возможность допустить предположение об использовании NSE в качестве маркера повреждения нейронов головного мозга и нарушения их функций у потомства с перенесенной пренатальной гипоксией, в частности у детей с ЗВУР.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках Госзаданий АААА-А18-118012290373-7 и АААА-А19-1190212901-1

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этические требования. Все процедуры по уходу и использованию животных выполняли в соответствии с требованиями Этических комитетов НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта и ИЭФБ РАН, European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС) и “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dubrovskaya N.M., Nalivaeva N.N., Vasilev D.S., Bagrova D.I., Zhuravin I.A.* // Nova Science Publishers. Inc. 2012. V. 6. P. 155–173.
2. *Морозова А.Ю., Арутюнян А.В., Милютин Ю.П., Морозова П.Ю., Козина Л.С., Журавин И.А.* // Нейрохимия. 2018. Т. 35. № 3. С. 256–263.
3. *Дубровская Н.М., Журавин И.А.* // Журн. высш. нервн. деят. 2008. Т. 58. № 6. С. 718–727.
4. *Isgro M.A., Bottori P., Scatena R.* // Adv. Exp. Med. Biol. 2015. V. 867. P. 125–143.
5. *Hague A., Polcyn R., Matcelle D., Vanik N.L.* // Brain. Sci. 2018. V. 8. P. 33–45.
6. *Блинов Д.В., Терентьев А.А.* // Нейрохимия. 2013. Т. 30. № 3. С. 179–192.
7. *Рахимбаева Г.С., Рашидова Н.С.* // Межд. неврологический журн. 2011. Т. 2. С. 123–128.
8. *Blennow K., Wallin A., Ekamn R.* // J. Neurol. Transm. 1994. V. 8. P. 27–30
9. *Жукова И.А., Алифиров В.М., Жукова Н.Г.* // Бюллетень сибирской медицины. № 2. 2011. С. 15–21.
10. *Kilkenny C., Browne W.J., Cuthill I. C., Emerson M., Altman D. G.* // PLoS Biol. 2010. V. 8. № 6. e1000412.
11. *Bradford M.M.* // Anal. Biochem. 1976. V. 72. P. 248–254.
12. *Васильев Д.С., Туманова Н.Л., Журавин И.А.* // Журн. эволюц. биох. физиол. 2008. Т. 44. № 3. С. 258–266.
13. *Burke R.E., Baimbridge K.G.* // J. Neuroscience. 1993. V. 56. № 2. P. 305–315.
14. *Rees S., Indel T.* // Early Hum. Dev. 2005. V. 81. № 9. P. 753–761.
15. *Vasilev D.S., Dubrovskaya N.M., Tumanova N.L., Zhuravin I.A.* // Front. Neurosci. 2016. V. 10. Article 126. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00126>
16. *Журавин И.А., Туманова Н.Л., Васильев Д.С.* // Докл. РАН. 2009. Т. 425. С. 123–125.
17. *Журавин И.А., Дубровская Н.М., Туманова Н.Л.* // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2003. Т. 89. С. 522–532.
18. *Резников К.Ю.* // Пролиферация клеток мозга позвоночных в условиях нормального развития мозга и при его травме. М.: Наука, 1981. 149 с.
19. *Miller M.W.* // J. Comp. Neurol. 1989. V. 287. P. 326–338.
20. *Ещенко Н.Д., Путилина Ф.Е., Галкина О.В.* // Биохимия развивающегося мозга. Избранные разделы. СПб.: Изд-во СПбУ, 2013. 252 с.
21. *Schaf D.V., Каушанская Е.Я.* // Значение нейротрофических белков и протеолитических ферментов в оценке тяжести критического состояния мозга новорожденных и их нервно-психического развития в раннем возрасте. Автореф. дис. ... канд. мед. наук, 1993. 47 с.
22. *Чехонин В.П., Дмитриева Т.Б., Жирков Ю.А.* // Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов. М., 2000. 416 с.
23. *Marangos P.J., Schmechel D.E., Parma A.M., Goodwin F.K.* // Brain Res. 1980. V. 3. P. 185–193.
24. *Schaf D.V., Tort A.B., Fricke D., Schestatsky P., Portela L.V., Souza D. O., Rieder C.R.* // Parkinsonism Relat. Disord. 2005. V. 11. P. 39–43.
25. *Chaves M.L., Cammozzato A.L., Ferreira E.D., Piazenski I., Kochhann R., Dalligna O., Mazzini G.S., Souza D. O., Portela L.V.* // J. Neuroinflam. 2010. V. 7. P. 6–18.

Influence of Prenatal Hypoxia on the Content of Neuron Specific Enolase in the Structures of the Brain and Blood Serum of Rats in Early Ontogeny

A. Yu. Morozova^a, A. V. Arutyunyan^{a, d}, Yu. P. Milyutina^a,
P. Yu. Morozova^c, L. S. Kozina^d, and I. A. Zhuravin^b

^aOtt Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Medicine, St. Petersburg, Russia

^bSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

^cSt. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

^dSt. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia

We studied the dynamics of changes in the content of neuron specific enolase (NSE, EC 4.2.1.11) in the hippocampus, cortex, and cerebellum of rats at 5, 10, and 30 days of postnatal development, as well as in their

blood serum. It was shown that the content of NSE during the first month of life increases several times in all studied structures, both after hypoxia and in the group of animals not exposed to hypoxic effects. It was established that prenatal hypoxia on the 14th day of embryonic development leads to significant changes in the NSE content in all the studied brain structures. In the blood serum, the content of this enzyme increases on 5th, 10th, and 30th days of life in experimental animals in comparison with the control group. Thus, the lack of oxygen affects the content of this enzyme both in the brain structures and in the blood serum of rats, which makes it possible to judge the survival of neurons under conditions of prenatal hypoxia, and also suggests the use of this index as a marker of fetal CNS disturbance after hypoxia during prenatal development.

Keywords: prenatal hypoxia, neuron-specific proteins, neuron specific enolase (NSE), hippocampus, cortex, cerebellum, blood serum, early ontogeny