

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-3-181-186>

УДК 577.2:616-091.8

© Коллектив авторов, 2021

Жукова А.Г.^{1,2}, Бугаева М.С.¹, Казницкая А.С.¹, Бондарев О.И.¹, Михайлова Н.Н.^{1,2}**Экспрессия защитных белков и морфологические изменения в головном мозге крыс при длительном воздействии на организм пыли**¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», ул. Кутузова, 23, Новокузнецк, Россия, 654041;²Новокузнецкий институт (филиал) ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», ул. Циолковского, 23, Новокузнецк, Россия, 654041

Введение. Ключевыми механизмами патологической реакции организма на угольно-пылевое воздействие являются гипоксия, чрезмерная активация свободнорадикальных процессов и структурно-метаболические нарушения в разных органах. В ответ на повреждающие воздействия включаются органоспецифические молекулярные механизмы защиты в виде изменения уровня белков с антигипоксическими (HIF-3a), шаперонными (HSP72) и антиоксидантными функциями (HOx-1 — гем-оксигеназа, Prx-1 — пероксиредоксин), высокий уровень которых способствует либо восстановлению функционального состояния клеток, либо свидетельствует о значительных повреждениях в тканях. Известно, что гипоксия и свободнорадикальные процессы приводят к серьезному повреждению мозга и поведенческим расстройствам. К настоящему времени мало известно об экспрессии защитных белков, а также о морфологических изменениях в головном мозге в условиях длительного воздействия угольно-породной пыли на организм. **Цель исследования** — в эксперименте изучить уровень внутриклеточных защитных белков HIF-3a, HSP72, HOx-1, Prx-1 и морфологические изменения в головном мозге в динамике длительного пылевого воздействия.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 60 белых крысах-самцах Вистар массой 200–250 г одного возраста. Пылевое воздействие моделировали методом динамической ингаляционной затравки крыс угольно-породной пылью (уголь газово-жирной марки) в интермиттирующем режиме в течение 12 недель. Проводили морфологические исследования головного мозга через 1, 3, 6, 9 и 12 недель пылевого воздействия. В цитозольной фракции ткани головного мозга методом Western-блот анализа определяли уровень экспрессии HIF-3a, HSP72, HOx-1 и Prx-1. В ткани головного мозга определяли активность свободнорадикальных процессов.

Результаты. При длительном воздействии угольно-породной пыли на организм на морфологическом уровне в головном мозге выявлены изменения, свидетельствующие о развитии гипоксии и активации свободнорадикальных процессов: микроваскулярные нарушения, перичеллюлярный отёк, выраженные дистрофические повреждения нейронов, очаговые выпадения нейронов и активация глиальных клеток. Активация защитных белков HIF-3a, HSP72, HOx-1 и Prx-1 на ранних сроках (1–3 неделя) угольно-пылевого воздействия обеспечивала компенсацию свободнорадикальных процессов в нейронах головного мозга. Увеличение сроков пылевого воздействия больше 6 недель характеризовалось низким уровнем HSP72, но высоким HIF-3a и Prx-1, что свидетельствовало об усилении гипоксических и свободнорадикальных повреждений в головном мозге.

Выводы. Полученные результаты расширяют представления о морфологических и молекулярных механизмах, происходящих в ткани головного мозга при длительном пылевом воздействии на организм, что имеет важное значение для разработки способов органоспецифической фармакологической коррекции.

Этика. Содержание, кормление и выведение животных из эксперимента проводили в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (№ 199н от 01.04.2016 г.), а также Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1996). На проведение исследования было получено разрешение биоэтического комитета Научно-исследовательского института комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний (протокол № 2 от 25 октября 2018 г.).

Ключевые слова: угольно-породная пыль; головной мозг; морфология; HIF-3a; HSP72; HOx-1; Prx-1

Для цитирования: Жукова А.Г., Бугаева М.С., Казницкая А.С., Бондарев О.И., Михайлова Н.Н. Экспрессия защитных белков и морфологические изменения в головном мозге крыс при длительном воздействии на организм пыли. *Мед. труда и пром. экол.* 2021; 61(3): 181–186. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-3-181-186>

Для корреспонденции: Жукова Анна Геннадьевна, зав. лаб. молекулярно-генетических и экспериментальных исследований ФГБНУ «НИИ КПППЗ», д-р биол. наук, доцент. E-mail: nyura_g@mail.ru

Благодарности. Авторы выражают благодарность главному научному сотруднику научно-исследовательской лаборатории трансляционной медицины Факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова д.б.н., профессору Архипенко Юрию Владимировичу и ведущему научному сотруднику научно-исследовательской лаборатории трансляционной медицины Факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова д.б.н., профессору Сазонтовой Татьяне Геннадьевне за помощь в организации исследования экспрессии белков.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 23.12.2020 / Дата принятия к печати: 25.03.2021 / Дата публикации: 22.04.2021

Anna G. Zhukova^{1,2}, Maria S. Bugaeva¹, Anastasiya S. Kazitskaya¹, Oleg I. Bondarev¹, Nadezhda N. Mikhailova^{1,2}**Expression of protective proteins and morphological changes in the rat brain after prolonged exposure to dust**¹Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, 23, Kutuzova Str., Novokuznetsk, Russia, 654041;²Novokuznetsk Institute (Branch Campus) of the "Kemerovo State University", 23, Tsiolkovskogo Str., Novokuznetsk, Russia, 654041

Introduction. The fundamental mechanisms of the body's pathological reaction to coal and dust exposure are hypoxia, excessive activation of free radical processes, structural and metabolic disorders in various organs. Organ-specific molecular defense mechanisms begin to function in the form of changes in the level of proteins with antihypoxic (HIF-3a), chaperone (HSP72), and antioxidant functions (HOx-1 — heme-oxygenase, Prx-1 — peroxiredoxin) under damaging effects.

Its high level contributes to the restoration of cells' functional state or indicates significant damage in tissues. Hypoxia and free radical processes are known to lead to severe brain damage and behavioral disorders. To date, little is known about the expression of protective proteins and morphological changes in the brain under prolonged exposure to coal-rock dust on the body.

The study aimed to learn the level of intracellular protective proteins HIF-3a, HSP72, HOx-1, Prx-1, and morphological changes in the brain in the dynamics of long-term dust exposure.

Materials and methods. Sixty white male Wistar rats weighing 200–250 g of the same age took part in the experiment. Dust exposure was modeled by way of dynamic inhalation priming of rats with coal-rock dust (coal of a gas-fat brand) in an intermittent mode for 12 weeks. We perform morphological studies of the brain after 1, 3, 6, 9, and 12 weeks of dust exposure. The cytosolic fraction of brain tissue researchers determined the expression level of HIF-3a, HSP72, HOx-1, and Prx-1 by Western blot analysis. We selected the activity of free radical processes in the brain tissue.

Results. Long-term exposure to coal-rock dust on the body at the morphological level in the brain revealed changes that indicate the development of hypoxia and activation of free radical processes: microvascular disorders, pericellular edema, severe dystrophic damage to neurons, focal loss of neurons, activation of glial cells. Activation of the protective proteins HIF-3a, HSP72, HOx-1, and Prx-1 in the early stages (1–3 weeks) of coal-dust exposure provided compensation for free radical processes in brain neurons. An increase in the duration of dust exposure of more than six weeks influences a low level of HSP72, but high HIF-3a and Prx-1, indicating an increase in hypoxic and free radical damage brain.

Conclusions. The results obtained to expand the understanding of the morphological and molecular mechanisms that occur in the brain tissue during prolonged dust exposure to the body are essential for developing methods for organ-specific pharmacological correction.

Ethics. We keep, fed and remove the animals from the experiment by the requirements of the guidelines of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation "On Approval of the Rules of Laboratory Practice" (No. 199n of 01.04.2016), as well as the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1996). The study was approved by the Bioethical Committee of the Research Institute of Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases (Protocol No. 2 of October 25, 2018).

Keywords: coal-rock dust; brain; morphology; HIF-3a; HSP72; HOx-1; Prx-1

For citation: Zhukova A.G., Bugaeva M.S., Kazitskaya A.S., Bondarev O.I., Mikhailova N.N. Expression of protective proteins and morphological changes in the rat brain after prolonged exposure to dust. *Med. truda i prom. ekol.* 2021; 61(3): 181–186. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-3-181-186>

For correspondence: Anna G. Zhukova, the Head of molecular-genetic and experimental research laboratory, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Dr. of Sci. (Biol.), Associate Professor. E-mail: nyura_g@mail.ru

Information about authors: Zhukova A.G. <https://orcid.org/0000-0002-4797-7842>

Bugaeva M.S. <https://orcid.org/0000-0003-3692-2616>

Kazitskaya A.S. <https://orcid.org/0000-0001-8292-4810>

Bondarev O.I. <https://orcid.org/0000-0002-5821-3100>

Mikhailova N.N. <https://orcid.org/0000-0002-1127-6980>

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the chief researcher of the Research Laboratory of Translational Medicine, Faculty of Fundamental Medicine of the Lomonosov Moscow State University, Professor Yuri V. Arkhipenko, and the leading researcher of the Research Laboratory, Translational Medicine of the Faculty of Fundamental Medicine of the Lomonosov Moscow State University, Professor Tatyana G. Sazontova, for their assistance in organizing the study of protein expression.

Funding. The study had no funding.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 23.12.2020 / Accepted: 25.03.2021 / Published: 22.04.2021

Введение. Трудовая деятельность рабочих основных профессий на угольных предприятиях «связана с агрессивным воздействием многочисленных неблагоприятных производственных факторов», ведущим из которых является угольно-породная пыль (УПП) [1]. Показано, что «показатели профессиональной заболеваемости среди работающих в угледобывающей промышленности в Кемеровской области имеют постоянную тенденцию к росту» [2]. При этом в «структуре общесоматической патологии у шахтёров одно из ведущих мест занимают болезни нервной системы» [2], что обуславливает необходимость изучения молекулярных механизмов защиты головного мозга от длительного воздействия УПП на организм.

Ключевыми механизмами патологической реакции организма на угольно-пылевое воздействие являются «гипоксия, чрезмерная активация свободнорадикальных процессов (СРП) и структурно-метаболические нарушения в разных органах», что было показано ранее в экспериментальных исследованиях для ткани сердца, печени и лёгких [3–5].

Выявлено, что гипоксия и СРП «приводят к серьёзному повреждению мозга и поведенческим расстройствам» [6]. В то же время в ответ на повреждающие воздействия в разных тканях изменяется уровень белков с антигипоксическими (HIF-α), шаперонными (HSP72) и антиоксидантными функциями (HOx-1 — гем-оксигеназа, Prx-1 — пероксиредоксин) [3, 4, 6–8]. Активация этих белков способствует мобилизации защитных механизмов и восстановлению функционального состояния клеток [9], а их высокий уровень может свидетельствовать о значительных повреждениях в тканях [3, 5].

HIF-α (Hypoxia Inducible Factor) — α-субъединица фактора транскрипции, проявляющего свою активность при гипоксии [10]. Однако в последнее время HIF-α регистрируется и в ответ на индукцию СРП при других различных повреждающих воздействиях [3, 11]. Существуют 3 её изоформы, для которых характерны специфические свойства, — HIF-1α, HIF-2α и HIF-3α [12]. «Изоформа HIF-3α экспрессируется в большом количестве тканей: сердце, мозг, лёгкие, печень и др.» [12, 13]. Показано, что «при гипоксии увеличивается стабильность и уровень белка HIF-3α, в результате чего экспрессируется 155 генов, продукты которых участвуют в регуляции метаболизма глюкозы и аминокислот, синтеза эритропоэтина, активации апоптоза, внутриклеточной сигнализации и др.» [14, 15].

Антиоксидантный белок пероксиредоксин-1 (Prx-1) с молекулярной массой 22–27 кДа локализован в цитозоле клеток, обладает пероксидазной активностью [7, 16]. Кроме того, показано, что Prx-1 обладает шаперонной активностью [17].

К настоящему времени мало известно об экспрессии HIF-3α, HSP72, HOx-1 и Prx-1, а также о морфологических изменениях в головном мозге в условиях длительного воздействия УПП на организм.

Цель исследования — изучение уровня внутриклеточных защитных белков HIF-3α, HSP72, HOx-1, Prx-1 и морфологических изменений в головном мозге в динамике длительного воздействия.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 60 белых крысах-самцах Вистар массой 200–250 г одного возраста, выращенных в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище и воде, а также естественном чередовании суточной освещённости. Пылевое воздействие моделировали методом динамической ингаляционной затравки крыс УПП (уголь газово-жирной марки) в интермиттирующем режиме [18]. Крысы вдыхали УПП в затравочной пылевой камере ежедневно по 4 часа в течение 1 (n=10), 3 (n=10), 6 (n=10), 9 (n=10) и 12 недель (n=10) (средняя концентрация 50 мг/м³, размер пылевых частиц 5 микрон и меньше). Контрольные крысы (n=10) находились в такой же камере, но без подачи УПП.

Содержание, кормление и выведение животных из эксперимента проводили в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (№ 199н от 01.04.2016 г.), а также Руководством по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1996). На проведение исследования было получено разрешение биоэтического комитета Научно-исследовательского института комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний (протокол № 2 от 25 октября 2018 г.).

Морфологические исследования. Образцы головного мозга крыс после полной фиксации подвергали химической обработке с применением аппарата для гистологической проводки АТ-4М с последующей заливкой в гистомикс. На ротационном микротоме МЗП-01 (Россия) готовили срезы толщиной 5–17 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону для выявления эластических и коллагеновых волокон. Микро-

скопирование гистологических срезов проводили с помощью микроскопа *Olympus CX31 RBSF* (Германия) при увеличении окуляра — 10 крат, поле зрения — 20 мм и объектива 20, 40 и 100 с водной и масляной иммерсией.

Молекулярные исследования включали определение экспрессии *HIF-3α*, *HSP72*, *HOx-1* и *Prx-1* в цитозольной фракции ткани головного мозга методом *Western-блоттинга* с использованием первых специфических моноклональных и поликлональных антител (*Santa Cruz Biotechnology*) и вторых антител с пероксидазной меткой (*Jackson Immuno Research*). Детекцию проводили по хемилюминесценции с использованием реактивов *ECL* (*Amersham*) на рентгенографическую плёнку (*Kodak*).

Интенсивность свободнорадикальных процессов оценивали по уровню продуктов свободнорадикального окисления, индуцированного *in vitro* системой, содержащей аскорбат (0,2 мМ) при концентрации белка 2,5 мг/мл [19]. Концентрацию продуктов окисления оценивали по реакции с ТБК по классическому методу *Ohkawa* в модификации [20].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ *STATISTICA 6.0*. Для сравнения независимых выборок использовали непараметрический *Mann-Whitney U-Test*. Различия между выборками считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты проведённых исследований показали развитие патологических изменений в головном мозге экспериментальных крыс, выраженность которых зависела от длительности воздействия УПП на организм (табл. 1, рис. 1).

В целом на морфологическом уровне при длительном воздействии УПП на организм выявлены изменения, которые свидетельствуют о развитии гипоксии и метаболических перестройках в нейронах головного мозга крыс [3, 5, 9].

На ранних сроках пылевого воздействия недостаточная или избыточная активация компенсаторных механизмов может приводить к переходу физиологического ответа в патологический на поздних сроках как на внутриклеточном, так и на морфологическом уровне. С целью изучения специфических клеточных механизмов воздействия УПП на головной мозг оценили интенсивность СРП (рис. 2) и уровень внутриклеточных защитных белков *HIF-3α*, *HSP72*, *HOx-1* и *Prx-1* (табл. 2).

Из рисунка 2 видно, что интенсивность СРП в головном мозге крыс с пылевым воздействием была достоверно ниже по сравнению с контрольными животными. В динамике пылевого воздействия зарегистрировано снижение накопления свободнорадикальных продуктов в 1,3–1,7 раза в зависимости от времени индуцированного *in vitro* окисления, что свидетельствует об относительной устойчивости головного мозга к действию

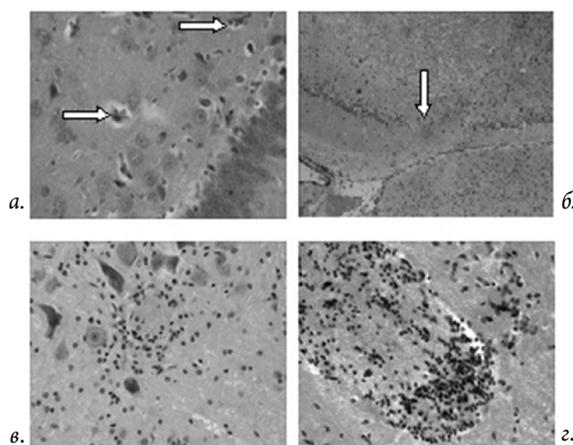


Рис. 1. Морфологические изменения в головном мозге экспериментальных животных в динамике воздействия угольно-породной пыли: а) 1 неделя — нейронафагия (ув. 400); б) 3 недели — выпадение нейронов (ув. 100); в) 6 недель — глиоз (ув. 400); г) 12 недель — глиоз (ув. 400). Окраска гематоксилин-эозином

Fig. 1. Morphological changes in the brain of experimental animals in the dynamics of exposure to coal-rock dust: а) 1 week — neuronophagia (magnification 400); б) 3 weeks — loss of neurons (magnification 100); в) 6 weeks — gliosis (magnification 400); г) 12 weeks — gliosis (magnification 400). Hematoxylin-eosin staining.

УПП. Такая компенсация СРП в головном мозге происходила за счёт увеличения уровня защитных белков, обладающих антигипоксическими, шаперонными и антиоксидантными функциями (табл. 2).

Видно, что уже с 1-й недели пылевого воздействия увеличивался уровень *HIF-3α*, достигая максимальных значений с 3-й по 6-ю (увеличен почти в 2 раза) недели эксперимента. Повышение уровня *HIF-3α* сопровождалось экспрессией *HSP72*, *HOx-1* и *Prx-1*. Так, длительное пылевое воздействие индуцировало синтез *HSP72*, уровень которого превышал контрольные значения примерно в полтора раза на 1–3 неделях эксперимента. Белок *HSP72* является важным звеном внутриклеточной антиоксидантной системы, которая защищает клетки от свободных радикалов. Этот белок участвует в рефолдинге или деградации окисленных белков, а также «поддерживает активность белков с антиоксидантными свойствами», в частности *HOx-1* и *Prx-1* [21]. Из таблицы 2 видно, что одновременно с индукцией *HSP72*, с 1-й недели пылевого воздействия активировался

Таблица 1 / Table 1

Патоморфологические изменения в головном мозге, ассоциированные с длительностью угольно-породного воздействия на организм

Pathomorphological changes in the brain associated with the duration of coal-rock exposure to the body

Длительность пылевого воздействия	Морфологические изменения в головном мозге экспериментальных животных
1–3 недели	Формирование незначительных начальных проявлений поражения нейронов с явлениями нейронафагии единичных клеток. Развитие сосудистой реакции в виде неравномерно выраженного полнокровия микроциркуляторного русла. Для всех гемодинамических структур характерна плазморрагия и гипертрофия эндотелия с гиперхромией ядер. Периваскулярный и перичеселлюлярный отёк. Отёк мягкой мозговой оболочки.
3–6 недель	Формирование зон «выпадения» нейронов, очагов глиоза. Для большинства нервных клеток характерен гиперхроматоз. Усиление признаков периваскулярного и перичеселлюлярного отёка. Утолщение стенок сосудов, эндотелиоциты набухшие, появление эндотелиоцитов угловатой формы, выступающих в просвет сосудов.
6–9 недель	Пикноз ядер части нейронов. В сосудах проявление выраженного эндотелиоза. Полнокровие сосудов мозговой оболочки неравномерно выражено.
9–12 недель	Дегенеративные изменения нервных клеток, пикноз части ядер, нейронафагия, очаговые выпадения нейронов, очаги глиоза. Прогрессирование утолщения стенок сосудов за счёт плазморрагии и гиалиноза, выраженные дистрофические изменения эндотелиоцитов, Мягкая мозговая оболочка отёчная.

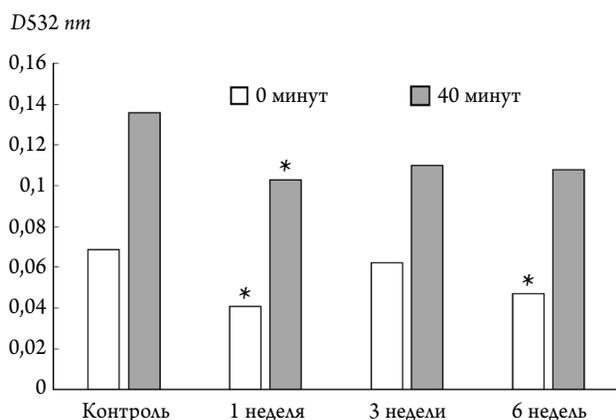


Рис. 2. Динамика накопления ТБК-активных продуктов свободнорадикального окисления (в ед. оптической плотности, D532 — по оси ординат) при его индукции *in vitro* в головном мозге экспериментальных крыс с длительным пылевым воздействием

Fig. 2. Dynamics of accumulation of TBA-active products of free radical oxidation (in optical density units, D532 is along the ordinate axis) during its induction *in vitro* in the brain of experimental rats with long-term dust exposure.

Примечание: данные представлены в виде медианы; 0 минут — исходный уровень ТБК-активных продуктов, 40 минут — уровень ТБК-активных продуктов после индукции окисления; * — $p \leq 0,05$ — уровень статистической значимости различий по сравнению с контрольной группой (Mann–Whitney U-test).

Note: data are presented as a median; 0 минут — the initial level of TBA-active products, 40 минут — the level of TBA-active products is after the induction of oxidation; * — $p \leq 0,05$ — the level of statistical significance of differences in comparison with the control group (Mann–Whitney U test).

синтез *HOx-1* (в 2 раза). В отличие от *HSP72*, индукция этого белка оставалась на высоком уровне весь период исследования. Показано, что «одновременная индукция *HSP72* и *HOx-1* свидетельствует о наличии свободнорадикального сигнала, а в случае увеличения уровня только *HOx-1* — о гипоксическом сигнале» [22].

С 3-й недели больше чем в 2,5 раза увеличивался уровень антиоксидантного белка с пероксидазной активностью — *Prx-1*. Увеличение уровня происходило одновременно с индукцией *HIF-3a* и *HOx-1*. Ранее было выявлено, что активация транскрипции генов *PRX* происходит одновременно с экспрессией других генов, индуцируемых окислительным стрессом и, в частности, с *HO-1* [23]. Возможно, что скоординированная экспрессия *HIF-3a*, *HOx-1* и *Prx-1* является общим адаптивным ответом нейронов головного мозга экспериментальных крыс на окислительный стресс, развивающийся в результате длительного воздействия УПП на организм.

Защитный нейропротекторный эффект индукции белков с антигипоксическими, шаперонными и антиоксидантными функциями проявлялся и на морфологическом уровне: на ранних

Таблица 2 / Table 2

Уровень защитных белков в головном мозге экспериментальных крыс с длительным пылевым воздействием
The level of protective proteins in the brain of experimental rats with long-term dust exposure

Экспериментальная группа	<i>HIF-3a</i> , ОДЕ	<i>HSP70</i> , ОДЕ	<i>HOx-1</i> , ОДЕ	<i>Prx-1</i> , ОДЕ
Контроль	6,6	1,9	1,35	7,4
1 неделя	9,1↑	3,1↑	2,17↑	6,7
3 недели	12,9↑	2,7↑	1,98↑	18,8↑
6 недель	11,7↑	1,8	1,87↑	19,8↑

Примечание: ОДЕ — относительные денситометрические единицы.
Note: ОДЕ — relative densitometry units.

сроках пылевого воздействия (1–3 недели) в головном мозге выявлены незначительные повреждения нервных клеток, а на 6-й неделе изменения прогрессировали, но не носили выраженный патологический характер (табл. 1).

Увеличение сроков пылевого воздействия на организм больше 9 недель приводило к развитию диффузных необратимых патоморфологических повреждений в исследуемом органе. Это связано с тем, что на фоне гипоксии может повышаться чувствительность мозга к индукции СРП [6]. На морфологическом уровне гипоксические и свободнорадикальные повреждения проявлялись микроваскулярными нарушениями, перичеллюлярным отёком, выраженными дистрофическими повреждениями нейронов и активацией глияльных клеток. К 12-й неделе пылевого воздействия в головном мозге часть нейронов находилась в процессе пикнотизации ядер, наблюдались выраженная нейронафагия, очаговые выпадения нервных клеток и глиоз.

Выводы:

1. При длительном воздействии УПП на организм на морфологическом уровне в головном мозге выявлены изменения, свидетельствующие о развитии гипоксии и активации свободнорадикальных процессов: микроваскулярные нарушения, перичеллюлярный отёк, выраженные дистрофические повреждения нейронов, очаговые выпадения нейронов и активация глияльных клеток.

2. Активация белков *HIF-3a*, *HSP72*, *HOx-1* и *Prx-1* на ранних сроках (1–3 неделя) угольно-пылевого воздействия обеспечивала защиту от свободнорадикальных процессов в нейронах головного мозга. Увеличение сроков пылевого воздействия больше 6 недель характеризовалось низким уровнем *HSP72*, но высоким *HIF-3a* и *Prx-1*, что свидетельствовало об усилении гипоксических и свободнорадикальных повреждений в головном мозге.

3. Полученные результаты расширяют представления о морфологических и молекулярных механизмах, происходящих в ткани головного мозга при длительном пылевым воздействием на организм, что имеет важное значение для разработки способов органоспецифической фармакологической коррекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чеботарёв А.Г. Современные условия труда на горнодобывающих предприятиях и пути их нормализации. *Горн. пром-сть*. 2012; (2): 84–8.
2. Коротенко О.Ю., Филимонов Е.С., Блажина О.Н., Уланова Е.В. Частота хронической общесоматической патологии у работников основных профессий угледобывающих предприятий юга Кузбасса. *Мед. в Кузбассе*. 2019; 18(4): 16–20.
3. Zakharenkov V.V., Mikhailova N.N., Zhdanova N.N., Gorokhova L.G., Zhukova A.G. Experimental study of the mechanisms of intracellular defense in cardiomyocytes associated with stages of anthracosilicosis development. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 159(4): 431–5. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2983-9>
4. Жукова А.Г., Казийская А.С., Жданова Н.Н., Горохова Л.Г., Михайлова Н.Н., Сазонтова Т.Г. Роль дигидрохверцетина в молекулярных механизмах защиты миокарда при пылевой патологии. *Мед. труда и пром. экол.* 2020; 60(3): 178–83. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-3-178-183>
5. Zhukova A.G., Mikhailova N.N., Zhdanova N.N., Kazitskaya A.S., Bugaeva M.S. et al. Participation of free-radical processes in structural and metabolic disturbances in the lung tissues caused by exposure to coal-rock dust and their adaptogenic correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020; 168(4): 439–43. <http://dx.doi.org/10.1007/s10517-020-04727-7>
6. Строев С.А., Глушенко Т.С., Тюлькова Е.И., Миеттинен М.Т., Самойлов М.О. Многократная умеренная гипобарическая гипоксия индуцирует экспрессию тиоредоксина-1 в гиппокампе и неокортексе крыс. *Нейрохимия*. 2018; 35(1): 23–33. <https://doi.org/10.7868/S1027813318010144>

7. Новоселов В.И. Роль пероксиредоксинов при окислительном стрессе в органах дыхания. *Пульмонология*. 2012; (1): 83–7.
8. Гарбуз Д.Г., Евгеньев М.Б. Эволюция генов теплового шока и характер экспрессии кодируемых ими белков у видов, обитающих в контрастных температурных условиях. *Генетика*. 2017; 53(1): 12–30. <https://doi.org/10.7868/S0016675817010064>
9. Соседова Л.М., Новиков М.А., Титов Е.А., Рукавишников В.С. Оценка биологических эффектов воздействия наносеребра на ткань головного мозга экспериментальных животных. *Мед. труда и пром. экол.* 2015; (4): 26–30.
10. Semenza G.L. Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. *Physiology (Bethesda)*. 2004; 19: 176–82. <https://doi.org/10.1152/physiol.00001.2004>
11. Баранова К.А., Рыбникова Е.А., Самоилов М.О. Динамика экспрессии HIF1 α в мозге крыс на разных этапах формирования экспериментального посттравматического стрессового расстройства и его коррекция умеренной гипоксией. *Нейрохимия*. 2017; 34(2): 137–45. <https://doi.org/10.7868/S1027813317020029>
12. Ravenna L., Salvatori L., Russo M. HIF3 α : the little know. *FEBS Journal*; 2016; 283: 993–1003. <https://doi.org/10.1111/febs.13572>
13. Pasanen A., Heikkilä M., Rautavuoma K., Hirsilä M., Kivirikko K.I., Myllyharju J. Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-3 α is subject to extensive alternative splicing in human tissues and cancer cells and is regulated by HIF-1 but not HIF-2. *J. Biochem. Cell. Biol.* 2010; 42(7): 1189–1200. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.04.008>
14. Duan C. Hypoxia-inducible factor 3 biology: Complexities and emerging themes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2016; 310(4): C260–9. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00315.2015>
15. Tolonen J.-P., Heikkilä M., Malinen M., Lee H.-M., Palvimo J.J., Wei G.-H., Myllyharju J. A long hypoxia-inducible factor 3 isoform 2 is a transcription activator that regulates erythropoietin. *Cell. Mol. Life Sci.* 2020; 77: 3627–42. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03387-9>
16. Шараров М.Г., Равин В.К., Новоселов В.И. Пероксиредоксины — многофункциональные ферменты. *Молекулярная биология*. 2014; 48(4): 600–28. <https://doi.org/10.7868/S0026898414040120>
17. Neumann C.A., Cao J., Manevich Ye. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling. *Cell Cycle*. 2009; 8(24): 4072–78. <https://doi.org/10.4161/cc.8.24.10242>
18. Горохова Л.Г., Бугаева М.С., Уланова Е.В., Фоменко Д.В., Кизиченко Н.В., Михайлова Н.Н.: *Способ затравки лабораторных животных пылью промышленного происхождения для моделирования силикоза*. Патент № 2546096 Рос. Федерация; 2015.
19. Архипенко Ю.В., Диденко В.В., Сазонтова Т.Г., Меерсон Ф.З. Сравнительная оценка влияния иммобилизационного стресса на динамику устойчивости к индукции перекисного окисления липидов внутренних органов и головного мозга. *Доклады АН СССР*. 1989; 304(6): 1500–03.
20. Kikugava K., Kojima T., Yamaki S. et al. Interpretation of the thiobarbituric acid reactivity of rat liver and brain homogenates in the presence of ferric ion and ethylenediaminetetraacetic acid. *Anal. Biochem.* 1992; 202: 249–55. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(92\)90102-d](https://doi.org/10.1016/0003-2697(92)90102-d)
21. Reeg S., Jung T., Castro J.P., Davies K.J.A., Henze A., Grune T. The molecular chaperone Hsp70 promotes the proteolytic removal of oxidatively damaged proteins by the proteasome. *Free Radic. Biol. Med.* 2016; 99: 153–66. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.08.002>
22. Сазонтова Т.Г., Глазачев О.С., Болотова А.В., Дуаник Е.Н., Стряпко Н.В., Бедарева И.В., Анчишкина Н.А., Архипенко Ю.В. Адаптация к гипоксии и гипероксии повышает физиологическую выносливость: роль активных форм кислорода и редокс сигнализации. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2012; 98(6): 793–807.
23. Nakaso K., Kitayama M., Mizuta E., Fukuda H., Ishii T., Nakashima K., Yamada K. Co-induction of heme oxygenase-1 and peroxiredoxin 1 in astrocytes and microglia around hemorrhagic region in the rat brain. *Neurosci. Lett.* 2000; 293: 49–52.

REFERENCES

1. Chebotarev A.G. Current working environment at mines and ways of its improvement. *Gornaya promyshlennost'*. 2012; (2): 84–8 (in Russian).
2. Korotenko O.Yu., Filimonov E.S., Blazhina O.N., Ulanova E.V. Frequency of chronic common somatic pathology in the workers of main professions of coal mining enterprises of the South of Kuzbass. *Meditsina v Kuzbasse*. 2019; 18(4): 16–20 (in Russian).
3. Zakharenkov V.V., Mikhailova N.N., Zhdanova N.N., Gorokhova L.G., Zhukova A.G. Experimental study of the mechanisms of intracellular defense in cardiomyocytes associated with stages of anthracosis development. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 159(4): 431–5. <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2983-9>
4. Zhukova A.G., Kazitskaya A.S., Zhdanova N.N., Gorokhova L.G., Mikhailova N.N., Sazontova T.G. The role of dihydroquercetin in the molecular mechanisms of myocardial protection in dust-induced pathology. *Мед. труда и пром. экол.* 2020; 60(3): 178–83. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2020-60-3-178-183> (in Russian)
5. Zhukova A.G., Mikhailova N.N., Zhdanova N.N., Kazitskaya A.S., Bugaeva M.S. et al. Participation of free-radical processes in structural and metabolic disturbances in the lung tissues caused by exposure to coal-rock dust and their adaptogenic correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020; 168 (4): 439–43. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04727-7>
6. Stroeve S.A., Glushchenko T.S., Tyul'kova E.I., Miettinen M.T., Samoilo M.O. Multiple mild hypobaric hypoxia induces expression of thioredoxin-1 in the hippocampus and neocortex of rats. *Нейрохимия*. 2018; 35(1): 23–33. <https://doi.org/10.7868/S1027813318010144> (in Russian)
7. Новоселов В.И. А роль пероксиредоксинов в окислительном стрессе в респираторной системе. *Пульмонология*. 2012; (1): 83–7 (in Russian).
8. Гарбуз Д.Г., Евгеньев М.Б. The Evolution of Heat Shock Genes and Expression Patterns of Heat Shock Proteins in the Species from Temperature Contrasting Habitats. *Genetika*. 2017; 53(1): 12–30. <https://doi.org/10.7868/S0016675817010064> (in Russian)
9. Sosedova L.M., Novikov M.A., Titov E.A., Rukavishnikov V.S. Evaluation of biologic effects caused by nano-silver influence on brain tissue of experimental animals. *Мед. труда и пром. экол.* 2015; (4): 26–30 (in Russian).
10. Semenza G.L. Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. *Physiology (Bethesda)*. 2004; 19: 176–82. <https://doi.org/10.1152/physiol.00001.2004>
11. Баранова К.А., Рыбникова Е.А., Самоилов М.О. The dynamics of HIF-1 α expression in the rat brain at different stages of experimental posttraumatic stress disorder and its correction with moderate hypoxia. *Нейрохимия*. 2017; 34(2): 137–45. <https://doi.org/10.7868/S1027813317020029> (in Russian)
12. Ravenna L., Salvatori L., Russo M. HIF3 α : the little know. *FEBS Journal*; 2016; 283: 993–1003. <https://doi.org/10.1111/febs.13572>
13. Pasanen A., Heikkilä M., Rautavuoma K., Hirsilä M., Kivirikko K.I., Myllyharju J. Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-3 α is subject to extensive alternative splicing in human tissues and cancer cells and is regulated by HIF-1 but not HIF-2. *J. Biochem. Cell. Biol.* 2010; 42(7): 1189–200. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.04.008>
14. Duan C. Hypoxia-inducible factor 3 biology: Complexities and emerging themes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2016; 310(4): C260–9. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00315.2015>
15. Tolonen J.-P., Heikkilä M., Malinen M., Lee H.-M., Palvimo J.J., Wei G.-H., Myllyharju J. A long hypoxia-inducible factor 3 isoform 2 is a transcription activator that regulates erythropoietin. *Cell. Mol. Life Sci.* 2020; 77: 3627–42. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03387-9>
16. Шараров М.Г., Равин В.К., Новоселов В.И. Peroxiredoxins as multifunctional enzymes. *Молекулярная биология*. 2014; 48(4): 600–28. <https://doi.org/10.7868/S0026898414040120> (in Russian)
17. Neumann C.A., Cao J., Manevich Ye. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling. *Cell Cycle*. 2009; 8(24): 4072–78. <https://doi.org/10.4161/cc.8.24.10242>
18. Gorokhova L.G., Bugaeva M.S., Ulanova E.V., Fomenko D.V., Kizichenko N.V., Mikhailova N.N. *Method of priming laboratory animals with industrial dust for modeling silicosis*. Patent № 2546096; 2015 (in Russian).
19. Архипенко Ю.В., Диденко В.В., Сазонтова Т.Г., Меерсон Ф.З. Comparative assessment of the effect of immobilization stress on the dynamics of resistance to induction of lipid peroxidation of internal organs and the brain. *Doklady AN SSSR*. 1989; 304(6): 1500–3 (in Russian).
20. Kikugava K., Kojima T., Yamaki S. et al. Interpretation of the thiobarbituric acid reactivity of rat liver and brain homogenates in the presence of ferric ion and ethylenediaminetetraacetic acid. *Anal. Biochem.* 1992; 202: 249–55. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(92\)90102-d](https://doi.org/10.1016/0003-2697(92)90102-d)
21. Reeg S., Jung T., Castro J.P., Davies K.J.A., Henze A., Grune T. The molecular chaperone Hsp70 promotes the proteolytic removal of oxidatively damaged proteins by the proteasome. *Free*

Оригинальные статьи

- Radic. Biol. Med.* 2016; 99: 153–66. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.08.002>
22. Sazontova T.G., Glazachev O.S., Bolotova A.V., Dudnik E.N., Stryapko N.V., Bedareva I.V., Anchishkina N.A., Arhipenko Yu.V. Adaptation to hypoxia and hyperoxia improves physical endurance: the role of reactive oxygen species and redox-signaling (Experimental and Applied Study). *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2012; 98(6): 793–807 (in Russian).
23. Nakaso K., Kitayama M., Mizuta E., Fukuda H., Ishii T., Nakashima K., Yamada K. Co-induction of heme oxygenase-1 and peroxiredoxin I in astrocytes and microglia around hemorrhagic region in the rat brain. *Neurosci. Lett.* 2000; 293: 49–52.
-