CZY RODZAJ ZASTOSOWANEJ STYMULACJI STRESOWEJ WPŁYWA NA LICZBĘ NEURONÓW ZAWIERAJĄCYCH INTERLEUKINĘ 1β (IL-1β) W STRUKTURACH HIPOKAMPA U STARZEJĄCYCH SIĘ SZCZURÓW?

Ewa Badowska-Szalewska[1], Jan H. Spodnik[1], Dariusz Świetlik[2], Janusz Moryś[1]

1) Zakład Anatomii i Neurobiologii ; 2) Wydziałowe Studium Informatyki Medycznej i Biostatystyki, **Gdański Uniwersytet Medyczny**

Wstęp. Starzenie się organizmu to etap ontogenezy, w którym hipokamp jest szczególnie wrażliwy na działanie różnorodnych bodźców stresowych. Znaczącą rolę w przemianach zachodzących w jego strukturach w tym okresie odgrywa prozapalna cytokina - interleukina 1β (IL-1β), która produkowana jest przez różne komórki układu nerwowego, w tym neurony, uczestnicząc w regulacji różnorodnych procesów komórkowych np. w warunkach stresowych.

Cel. Celem badań było porównanie wpływu dwóch różnych, przewlekłych bodźców stresowych na liczbę neuronów zawierających IL-1β w warstwie komórek piramidowych sektorów CA1, CA2 i CA3 hipokampa właściwego oraz w warstwie komórek ziarnistych zakrętu zębatego (DG) u starzejących się szczurów (P360; P – dzień życia postnatalnego).

Metodyka. Do doświadczeń użyto 24 szczury (po 8 w każdej grupie). Jako stresory zastosowano długotrwałą (15 min. dziennie przez 21 dni) ekspozycję na wymuszone pływanie (test FS) lub silnie oświetlone otwarte pole (test HL-OF). W badaniach zastosowano metody immunohistochemii (-ir). Dokumentację zdjęciową uzyskano przy użyciu systemu mikroskopii konfokalnej składającego sie z mikroskopu Eclipse 600 (Nikon, Japonia)oraz głowicy Radiance 2100 (BioRad, Wielka Brytania). IL-1β-ir i NeuN-ir (NeuN-neuronalny marker) podwójnie wybarwione skrawki były fotografowane pod powiększeniem 60x2 w warstwie komórek piramidowych sektorów CA1, CA2 i CA3 oraz w warstwie komórek ziarnistych DG. Analizę zdjęć wykonano przy użyciu oprogramowania Laser Pix celem oceny ilości komórek. Liczono 4-6 przekroje z tego samego regionu hipokampa dla 1 szczura; dane uśredniono. Analiza statystyczna obejmowała parametryczną analizę wariancji ANOVA. Różnice międzygrupowe zbadano testem Kruskall-Wallisa na poziomie istotności $p<0.05$. Wyniki badań wyrażono w procentach (liczba komórek podwójnie znakowanych IL-1β/NeuN-ir w odniesieniu do wszystkich komórek NeuN-ir)± odchylenie standardowe (SD).

Wyniki. Stwierdzono, że w stosunku do kontroli, zastosowanie przewlekłej FS stymulacji spowodowało statystycznie istotny procentowy wzrost liczby neuronów zawierających IL-1β-ir w sektorach CA2 (*p<0.001*), CA3 (*p<0.01*) i DG (*p<0.001*) hipokampa, natomiast po długotrwałej ekspozycji na HL-OF procent komórek IL-1β/NeuN-ir wzrósł (*p<0.001*) w sektorze CA2 i DG. Nie zaobserwowano istotnych zmian w sektorze CA1 zarówno po FS jak i HL-OF.

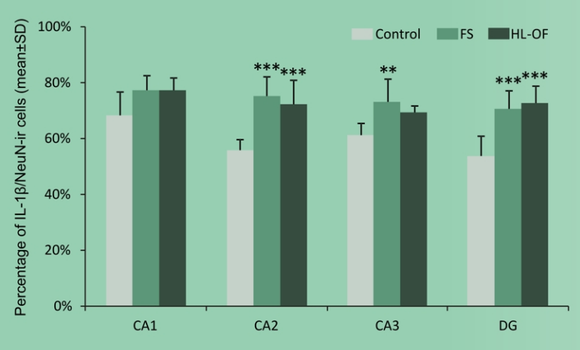

Fig. 1. Wpływ przewlekłej FS lub HL-OF stymulacji stresowej na procent IL-1β/NeuN-ir komórek w warstwie komórek piramidowych sektorów CA1, CA2, CA3 oraz w warstwie komórek ziarnistych zakrętu zębatego (DG) u starzejących się (P360) szczurów. Porównanie eksperymentalnych grup (FS lub HL-OF) z grupą kontrolną. Istotne różnice oznaczono jako: ** (*P<0.01*) i *** (*P<0.001*).

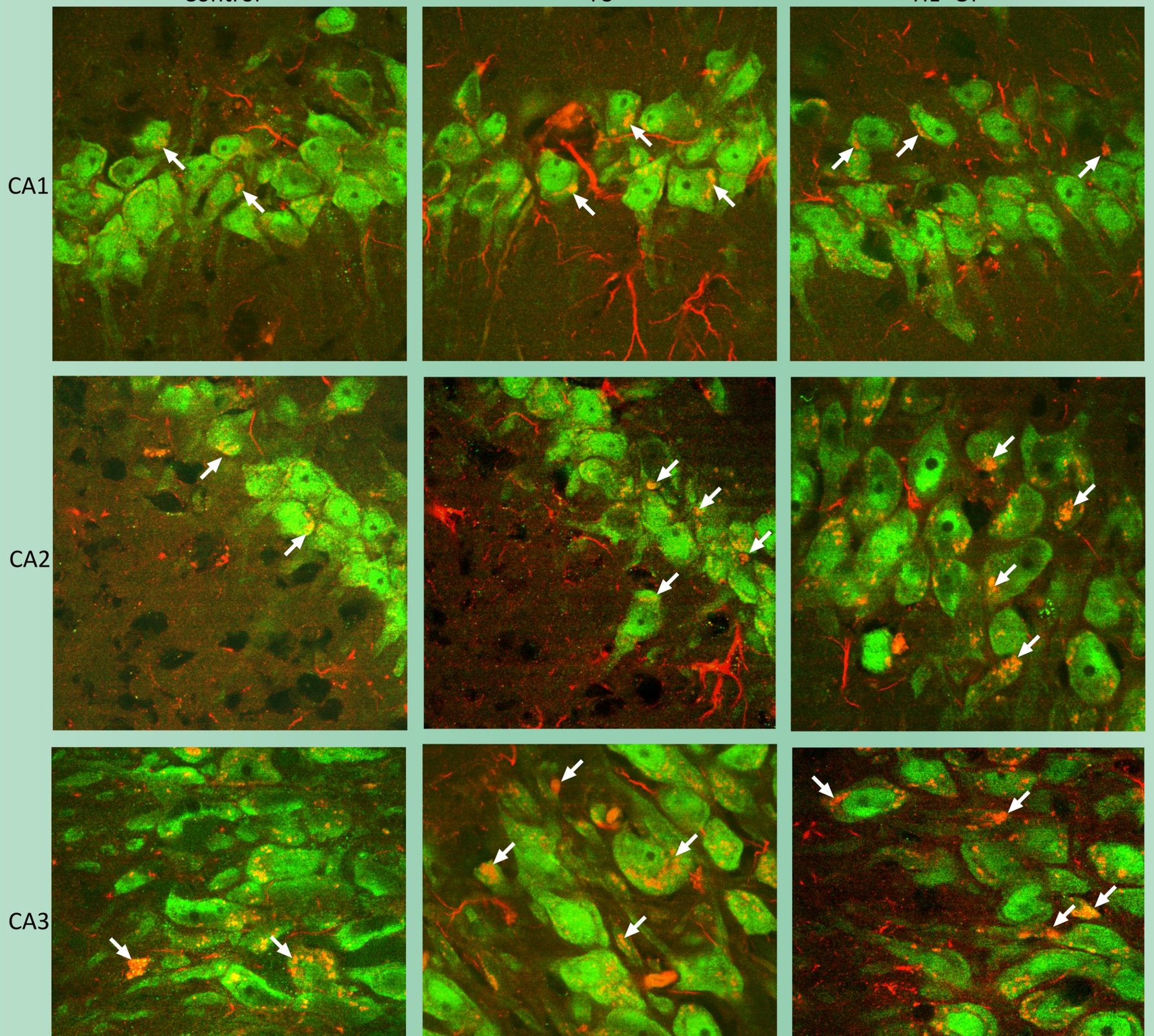

Fig. 2. Rozmieszczenie IL-1β-ir (czerwony), NeuN-ir (zielony) i podwójnie znakowanych IL-1β/NeuN-ir komórek (żółto-pomarańczowy; strzałka) w warstwie komórek piramidowych sektorów CA1, CA2, CA3 oraz w warstwie komórek ziarnistych zakrętu zębatego (DG) hipokampa u starzejących się (P360) szczurów w grupie kontrolnej i w grupach po długotrwałej FS lub HL-OF stymulacji stresowej. Powiększenie 60x2.

W N I O S K I

1. Wzrost liczby IL-1β/NeuN-ir komórek w hipokampie starzejących się szczurów poddanych długotrwałej FS lub HL-OF stymulacji stresowej, prawdopodobnie był związany ze zmianami neuronalnej regulacji jego struktur i może wskazywać na ważną rolę neuronalnej IL-1β w modulacji osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej.
2. Rodzaj zastosowanego bodźca stresowego (FS versus HL-OF) nie był czynnikiem różnicującym liczbę neuronów IL1β-ir w żadnej ze struktur hipokampa.

Design Sylwia Scisłowska www.scislowska.pl