

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 612.82:616.367-008.811.5/.6)-092.9
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-135-141>

Поступила в редакцию 04.05.2018
Received 04.05.2018

С. В. Емельянчик¹, О. А. Карнюшко², С. М. Зиматкин²

¹Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь
²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

**ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА C-FOS В НЕЙРОНАХ КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРЫС
ПРИ ХОЛЕСТАЗЕ**

Аннотация. Холестаз (нарушение оттока желчи из печени в двенадцатиперстную кишку) является частым осложнением желчекаменной болезни и другой патологии гепатобилиарной системы. При этом нарушаются все виды обмена веществ и поражаются все органы и системы организма, включая нервную.

Цель исследования – установить изменения иммунореактивности белка c-fos в нейронах мозжечка крыс в различные сроки после моделирования подпеченочного холестаза.

В работе использован материал от 60 беспородных белых крыс-самцов массой 200–250 г. Опытным животным проводили перевязку общего желчного протока, контрольным – ложную операцию с сохранением физиологического тока желчи в двенадцатиперстную кишку на протяжении всего эксперимента.

Установлено, что подпеченочный холестаз у крыс на 2–20-е сутки после перевязки общего желчного протока сопровождается возрастанием в коре мозжечка числа нейронов с повышенной c-fos-иммунореактивностью (пик наблюдается на 10-е сутки опыта). У выживших животных после устранения холестаза в отдаленные сроки опыта (45–90-е сутки) количество нейронов с повышенной c-fos-иммунореактивностью, а также экспрессия этого белка в нейронах нормализуются.

Ключевые слова: холестаз, мозжечок, клетки Пуркинье, c-fos, крысы

Для цитирования: Емельянчик, С. В. Экспрессия белка c-fos в нейронах коры мозжечка крыс при холестазе / С. В. Емельянчик, О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 135–141. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-135-141>

S. V. Emelyanchik¹, O. A. Karniushko², S. M. Zimatkin²

¹*Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus*
²*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

EXPRESSION OF PROTEIN C-FOS IN CEREBELLUM NEURONS OF RATS AT CHOLESTASIS

Abstract. Cholestasis (disturbance of the liver bile outflow into the duodenum) is a frequent complication of cholelithiasis and other pathologies of the hepatobiliary system. In this case, all metabolism types are disturbances and all body organs and systems, including the nervous system, are affected.

The objective of the study was to establish changes in the c-fos immunoreactivity in the cerebellum neurons of rats at different time after modeling subhepatic cholestasis.

In this work, we used a material of 60 white male rats 200–250 g in weight. In experimental animals, the ligation of the common bile duct was carried out, in control animals – a false operation while maintaining a physiological bile flow in the duodenum throughout the experiment.

Subhepatic cholestasis in rats is accompanied by an increase in the cortex cerebellum on the 2–20th days after the ligation of the common bile duct of the number of neurons with the increased c-fos-immunoreactivity, with the maximum one on the 10th day of the experiment. In surviving animals, after the removal of cholestasis in the long term (45–90 days), the number of neurons with the increased c-fos immunoreactivity, as well as the expression of this protein in neurons is normalized.

Keywords: cholestasis, cerebellum, Purkinje cells, c-fos, rats

For citation: Emelyanchik S. V., Karniushko O. A., Zimatkin S. M. Expression of protein *c-fos* in cerebellum neurons of rats at cholestasis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 2, pp. 135–141 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-135-141>

Введение. Холестаз (нарушение оттока желчи из печени в двенадцатиперстную кишку) является частым осложнением желчекаменной болезни и другой патологии гепатобилиарной системы. Он приводит к нарушениям переваривания и всасывания в кишечнике (особенно жиров) и накоплению компонентов желчи в крови (билирубин, холестерин, желчные кислоты). При этом нарушаются все виды обмена веществ и поражаются все органы и системы организма, включая нервную [1, 2]. У пациентов и животных с холестазом развиваются нервно-психические и поведенческие нарушения [3, 4]. В предыдущих исследованиях нами выявлены вполне закономерные глубокие при экспериментальном подпеченочном холестазе гистологические, гистохимические и ультраструктурные изменения в нейронах коры головного мозга, мозжечка и гистаминергических нейронах гипоталамуса крыс, приводящие к их повреждению и гибели [1, 5–7]. Представляет большой интерес изучение при этом молекулярных нейромаркеров, которые могут быть связаны с выявленными морфофункциональными нарушениями. Среди них особое внимание привлекает белок *c-fos*, экспрессия которого отражает активацию гена *c-fos*, который относится к группе генов немедленного раннего ответа нейронов, которые транскрипционно регулируют гены, контролирующие выживание, пролиферацию и рост клеток [8, 9]. Выявление данного белка используют как иммуногистохимический маркер активации нейронов [10].

В предыдущих исследованиях установлено, что в ответственных за поддержание артериального давления нейронах ядра солитарного тракта среднего мозга крыс через 5 сут после перевязки общего желчного протока (ОЖП) иммунореактивность белка *c-fos* не менялась, а после 25 сут холестаза повышалась [11]. Через 21 сут после легирования ОЖП в головном мозге крыс линии Wistar установлено снижение иммунореактивности *c-fos* белка в ядре боковой перегородки и медиальном амигдаллярном ядре [4]. Кроме того, показано, что при одном холестазе нет отличий в экспрессии *c-fos*, и только при дополнительном стрессе (водный лабиринт Морриса) у крыс отмечается увеличение количества иммунопозитивных нейронов в гиппокампе и префронтальной коре головного мозга [12]. Таким образом, данные литературы по изучению экспрессии *c-fos* в нейронах мозга при холестазе отрывочны и противоречивы, а по мозжечку совсем отсутствуют.

Цель исследования – установить изменения иммунореактивности *c-fos* в нейронах мозжечка крыс в различные сроки после моделирования подпеченочного холестаза.

Материалы и методы исследования. В работе использован материал от 60 беспородных белых крыс-самцов массой 200–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». На проведение исследования получено разрешение этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет» (протокол № 1 от 11.01.2017).

Для моделирования холестаза животным осуществляли перевязку ОЖП на 3–5 мм ниже слияния долевых протоков двумя лигатурами с последующим пересечением между ними [13]. Животным контрольной группы проводили ложную операцию. Через 2, 5, 10, 20, 45 и 90 сут в утренние часы (для синхронизации по времени) животных выводили из эксперимента путем декапитации, предварительно усыпив парами эфира. Для исследования брали стандартные кусочки полушарий мозжечка согласно стереотаксическому атласу мозга крысы [14], фиксировали их в цинк-этанол-формальдегиде при +4 °С (на ночь), а затем заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 7 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия) и монтировали на предметные стекла. Для стандартизации полученных результатов образцы коры от всех животных обрабатывали параллельно и в одинаковых условиях.

Для иммуногистохимического выявления *c-fos* применяли первичные поликлональные кроличьи антитела *c-fos* фирмы Abcam (Великобритания, ab 209794) в разведении 1:1000 при +4 °С, экспозиция 20 ч, во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80437).

Изучение иммуногистохимических препаратов, их микрофотографирование и цитофотометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Подсчет иммунопозитивных *c-fos* нейронов производили в каждом препарате в соответствующем слое коры в 10 полях зрения. Полученные результаты обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер 31415926535897). В описательной статистике для каждого показателя определяли значения медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann–Whitney *U*-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Результаты исследования. Результаты иммуногистохимического исследования показали, что *c-fos*-позитивные нейроны выявляются во всех слоях коры мозжечка. Ядра нейронов иммунонегативны. Цитоплазма этих нейронов заполнена мелкими коричневыми гранулами хромогена, демонстрирующими расположение исследуемого белка. Иногда окрашиваются начальные участки дендритов клеток Пуркинье. При этом *c-fos*-иммунореактивность разных нейронов значительно варьируется, однако преобладают клетки с умеренной *c-fos*-иммунореактивностью (рис. 1–4).

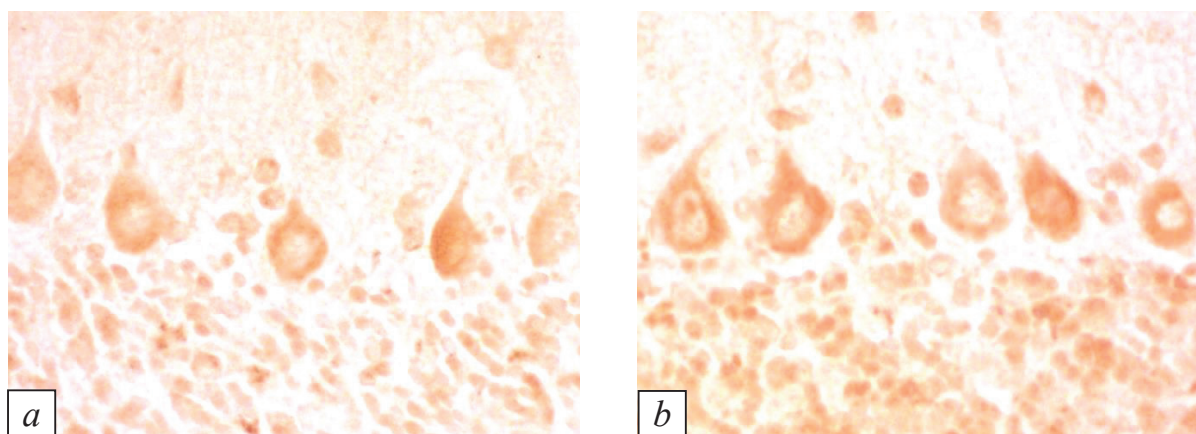


Рис. 1. Экспрессия *c-fos* в клетках Пуркинье коры мозжечка крыс: *a* – в контроле (через 2 сут после ложной операции), *b* – в опыте (после 2 сут холестаза). Цифровая микрофотография, $\times 300$

Fig. 1. Expression of *c-fos* in Purkinje cells of the cerebellar cortex of rats: *a* – control (2 days after a false operation), *b* – experiment (after 2 days of cholestasis). Digital microphotography, $\times 300$

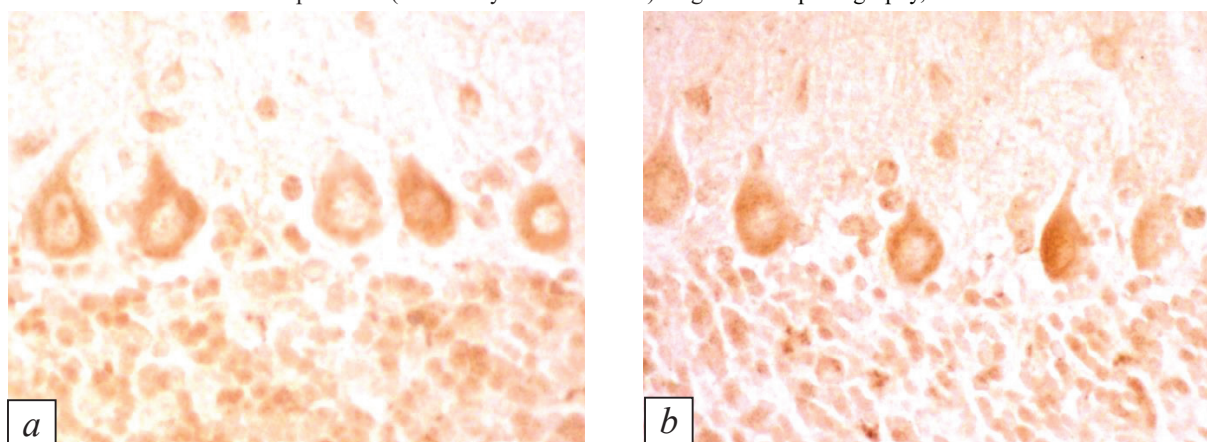


Рис. 2. Экспрессия *c-fos* в клетках Пуркинье коры мозжечка крыс: *a* – в контроле (через 5 сут после ложной операции), *b* – в опыте (после 5 сут холестаза). Цифровая микрофотография, $\times 300$

Fig. 2. Expression of *c-fos* in Purkinje cells of the cerebellar cortex of rats: *a* – control (5 days after a false operation), *b* – experiment (after 5 days of cholestasis). Digital microphotography, $\times 300$

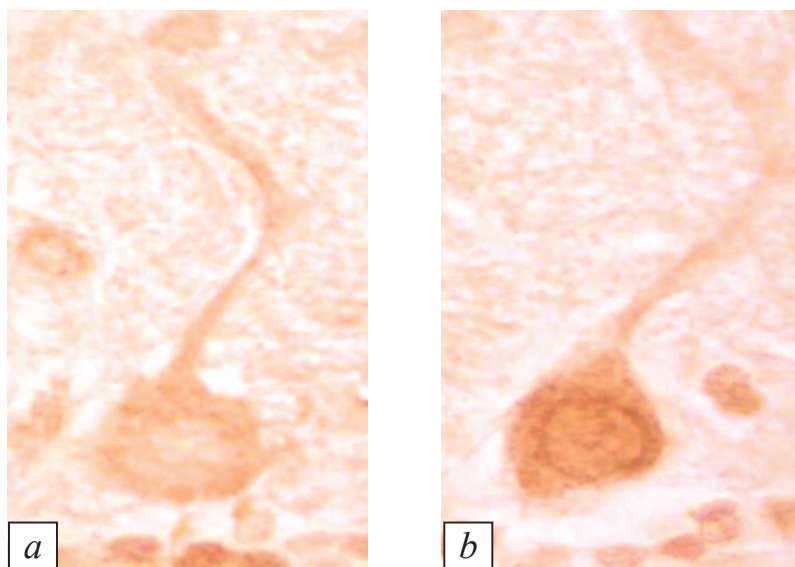


Рис. 3. Экспрессия c-fos в клетках Пуркинье коры мозжечка крыс: *a* – в контроле (через 20 сут после ложной операции), *b* – в опыте (после 20 сут холестаза). Цифровая микрофотография, $\times 800$

Fig. 3. Expression of c-fos in Purkinje cells of the cerebellar cortex of rats: *a* – control (20 days after a false operation), *b* – experiment (after 20 days of cholestasis). Digital microphotography, $\times 800$

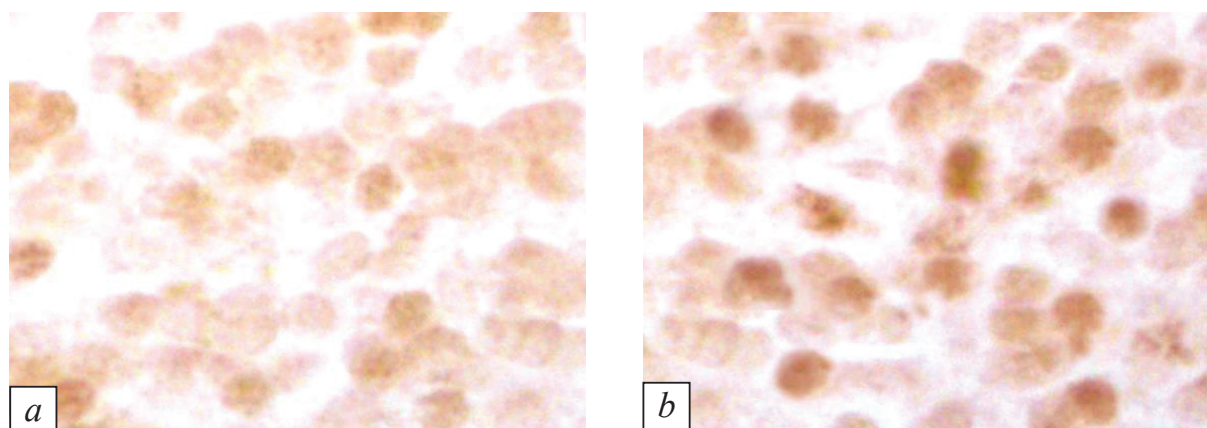


Рис. 4. Экспрессия c-fos в ядрах клеток-зерен коры мозжечка крыс: *a* – в контроле (через 2 сут после ложной операции), *b* – в опыте (после 2 сут холестаза). Цифровая микрофотография, $\times 400$

Fig. 4. Expression of c-fos in the nuclei of the cell-grains of the cerebellar cortex of rats: *a* – control (2 days after a false operation), *b* – experiment (after 2 days of cholestasis). Digital microphotography, $\times 400$

После 2 сут холестаза происходит увеличение экспрессии c-fos в цитоплазме клеток Пуркинье (табл. 1) на 13 % ($p = 0,002$) и возрастание числа зернистых нейронов с высокой c-fos-иммунореактивностью (от 17,3 % в контроле до 24,4 % в опыте) (табл. 2, рис. 1).

После 5 сут холестаза экспрессия c-fos в клетках Пуркинье мозжечка увеличена на 16,6 % ($p = 0,001$), а число зернистых нейронов с высокой c-fos-иммунореактивностью возрастает до 27 % (рис. 2, табл. 1, 2).

После 10 сут холестаза экспрессия c-fos в клетках Пуркинье мозжечка повышена на 20,5 % ($p = 0,003$), а число зернистых нейронов с высокой c-fos-иммунореактивностью возрастает до 30 % (табл. 2).

После 20 сут холестаза экспрессия c-fos в клетках Пуркинье мозжечка повышена на 16 % ($p = 0,002$), а число зернистых нейронов с высокой c-fos-иммунореактивностью составляет 25,5 % (рис. 3, табл. 2).

Через 45 и 90 сут после перевязки ОЖП, когда явления холестаза у выживших животных исчезают (в результате разрастания обходных желчевыводящих протоков), содержание c-fos в цитоплазме клеток Пуркинье мозжечка и число клеток с высокой c-fos-иммунореактивностью нормализуется (см. табл. 1, 2).

Таблица 1. Экспрессия c-fos в перикарионах клеток Пуркинье коры мозжечка крыс контрольной группы и в разные сроки подпеченочного холестаза ($\times 10^3$) (Me \pm IQR)

Table 1. Expression of c-fos in the perikaryon of Purkinje cells of the cerebellar cortex of control rats and at different time of subhepatic cholestasis ($\times 10^3$) (Me \pm IQR)

Сутки	Контроль (n = 30)	Опыт (n = 30)	p
2-е	274,0 \pm 39,49	310,47 \pm 79,52 *** [†]	0,002
5-е	279,20 \pm 48,76	325,46 \pm 125,13 *** [†]	0,001
10-е	288,31 \pm 40,15	347,31 \pm 92,28 *** [†]	0,003
20-е	280,13 \pm 90,21	326,14 \pm 102,38 *** [†]	0,002
45-е	270,97 \pm 80,77	271,68 \pm 58,50	0,194
90-е	242,94 \pm 73,08	248,91 \pm 33,23	0,351

Примечание. *** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем; [↓] – статистически значимое снижение изучаемого параметра; [†] – статистически значимое увеличение изучаемого параметра.

Таблица 2. Экспрессия c-fos в клетках-зернах коры мозжечка крыс контрольной группы и в разные сроки подпеченочного холестаза, %

Table 2. Expression of c-fos in the cell-grains of the cerebellar cortex of control rats and at different time of subhepatic cholestasis, %

Сутки	Контроль (n = 30)	Опыт (n = 30)
2-е	17,3	24,4 [†]
5-е	17,2	26,9 [†]
10-е	17,2	30,3 [†]
20-е	17,2	25,5 [†]
45-е	17,2	18,8 [†]
90-е	16,9	16,8 [↓]

Примечание. [†] – увеличение изучаемого параметра; [↓] – уменьшение изучаемого параметра.

Обсуждение. Гетерогенность иммунореактивности c-fos в нейронах коры мозжечка в контроле может быть обусловлена разной функциональной активностью нейронов. Эта гетерогенность становится еще более выраженной после перевязки ОЖП (при моделировании холестаза), когда в отдельных нейронах иммунореактивность c-fos уменьшается, вплоть до полного исчезновения (вероятно, это погибающие нейроны), а в других – резко возрастает (активированные нейроны, возможно пытающиеся адаптироваться и выжить). Максимальное возрастание количества зернистых нейронов с высокой c-fos-иммунореактивностью отмечено на 10-е сутки опыта. Это согласуется с данными работы [15], согласно которым при одном и том же экспериментальном воздействии (при раздражении роговицы у мышей) экспрессия c-fos может меняться в структурах мозга по-разному: в одних она уменьшается, а в других возрастает.

В наших предыдущих исследованиях установлено, что морфофункциональные изменения в нейронах коры мозжечка появляются уже на 2-е сутки после перевязки ОЖП и достигают максимума на 10–20-е сутки (пик холестаза). Полученные данные хорошо согласуются с повышением в коре мозжечка количества нейронов с высокой c-fos-иммунореактивностью именно в эти сроки. Увеличение в нейронах белка c-fos можно расценить как адаптационный процесс, направленный на повышение устойчивости нейронов к нарастающему холестазу и компенсации функций погибающих нейронов. В наших предыдущих работах установлены ранние нарушения

в нейронах коры мозжечка митохондрий при холестазах (набухание матрикса, разрушение крист), сопровождающиеся снижением активности маркерных ферментов митохондрий, сукцинат- и НАДН-дегидрогеназы [1, 7]. Считают, что нарушения структуры митохондрий приводят к клеточному стрессу, способствуя увеличению содержания изучаемого белка c-fos как иммуногистохимического маркера повышенной активности нейронов [10, 16, 17].

В отдаленные сроки (на 45–90-е сутки после перевязки ОЖП) после самопроизвольного устранения холестаза (в результате прорастания обходных желчевыводящих путей) все исследованные нами морфофункциональные показатели нейронов коры мозжечка практически приходят к контрольным значениям [7], в частности нормализуется иммунореактивность c-fos.

Выводы

1. Подпеченочный холестаз у крыс на 2–20-е сутки после перевязки общего желчного протока сопровождается возрастанием в коре мозжечка числа нейронов с повышенной c-fos-иммунореактивностью (пик наблюдается на 10-е сутки опыта).

У выживших животных после устранения холестаза в отдаленные сроки опыта (45–90-е сутки) количество нейронов с повышенной c-fos-иммунореактивностью, а также экспрессия этого белка в нейронах нормализуются.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Емельянич, С. В. Мозг при холестазах / С. В. Емельянич, С. М. Зиматкин. – Гродно : Гродн. гос. ун-т, 2011. – 265 с.
2. Емельянич, С. В. Нарушения в мозге при холестазах и пути коррекции / С. В. Емельянич, С. М. Зиматкин. – Гродно : Гродн. гос. мед. ун-т, 2016. – 224 с.
3. Normal cortical regional cerebral blood flow justifies the normal neuropsychological performance in patients with cholestatic liver disease / M. Senzolo [et al.] // *Psychiatry Clin. Neurosci.* – 2007. – Vol. 61, N 2. – P. 209–210. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2007.01645.x>
4. Behavioral alterations and fos protein immunoreactivity in brain regions of bile duct-ligated cirrhotic rats / L. le Sueur-Maluf [et al.] // *An. Acad. Bras. Cienc.* – 2015. – Vol. 87, N 1. – P. 331–341. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420130262>
5. Зиматкин, С. М. Метаболические изменения в гистаминергических нейронах мозга крыс в динамике подпеченочного холестаза / С. М. Зиматкин, О. В. Барабан, С. В. Емельянич // *Морфология.* – 2007. – Т. 132, № 4. – С. 27–30.
6. Емельянич, С. В. Структурные и метаболические изменения в нейронах теменной коры мозга крыс при отведении желчи / С. В. Емельянич, С. М. Зиматкин // *Морфология.* – 2012. – Т. 141, № 2. – С. 7–12.
7. Емельянич, С. В. Структурные и гистохимические изменения в клетках Пуркинье мозжечка крыс при холестазах / С. В. Емельянич, С. М. Зиматкин // *Морфология.* – 2013. – Т. 143, № 2. – С. 019–023.
8. The role of CD4-dependent signaling in interleukin-16 induced c-Fos expression and facilitation of neurite outgrowth in cerebellar granule neurons / C. P. Fenster [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2010. – Vol. 485, N 3. – P. 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.09.014>
9. Distinct regulation of activity-dependent transcription of immediate early genes in cultured rat cortical neurons // M. Fukuchi [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2017. – Vol. 490, N 3. – P. 682–687. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.101>
10. Moretto, J. N. Acute restraint stress decreases c-fos immunoreactivity in hilar mossy cells of the adult dentate gyrus / J. N. Moretto, Á. M. Duffy, H. E. Scharfman // *Brain Struct. Funct.* – 2017. – Vol. 222, N 5. – P. 2405–2419. <https://doi.org/10.1007/s00429-016-1349-z>
11. Breitman, D. R. Blunted responsiveness of the neuronal activation marker Fos in brainstem cardiovascular nuclei of cirrhotic rats / D. R. Breitman, S. S. Lee // *Hepatology.* – 1997. – Vol. 26, N 6. – P. 1380–1385. <https://doi.org/10.1002/hep.510260601>
12. Working memory impairment and reduced hippocampal and prefrontal cortex c-Fos expression in a rat model of cirrhosis / M. Méndez [et al.] // *Physiol. Behav.* – 2008. – Vol. 95, N 3. – P. 302–307. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.06.013>
13. Кизюкевич, Л. С. Реактивные изменения в почках при экспериментальном холестазах / Л. С. Кизюкевич. – Гродно : Гродн. гос. мед. ун-т, 2005. – 239 с.
14. Paxinos, G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – 6th ed. – London : Academic Press, 2007. – 448 p.
15. 6 Hz corneal kindling in mice triggers neurobehavioral comorbidities accompanied by relevant changes in c-Fos immunoreactivity throughout the brain / G. Albertini [et al.] // *Epilepsia.* – 2018. – Vol. 59, N 1. – P. 67–78. <https://doi.org/10.1111/epi.13943>
16. Galluzzi, L. Mitochondrial membrane permeabilization in neuronal injury / L. Galluzzi, K. Blomgren, G. Kroemer // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2009. – Vol. 10, N 7. – P. 481–494. <https://doi.org/10.1038/nrn2665>
17. Lin, M. T. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases / M. T. Lin, M. F. Beal // *Nature.* – 2006. – Vol. 443, N 7113. – P. 787–795. <https://doi.org/10.1038/nature05292>

References

1. Emel'yanchik S. V., Zimatkin S. M. *Brain after cholestasis*. Grodno, Grodno State University Publ., 2011. 265 p. (in Russian).
2. Emel'yanchik S. V., Zimatkin S. M. *Disturbance in the brain with cholestasis and correction ways*. Grodno, Grodno State Medical University Publ., 2016. 224 p. (in Russian).
3. Senzolo M., Pizzolato G., Dam M., Sturniolo G. C., Burra P. Normal cortical regional cerebral blood flow justifies the normal neuropsychological performance in patients with cholestatic liver disease. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 2007, vol. 61, no. 2, pp. 209–210. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2007.01645.x>
4. Le Sueur-Maluf L., Viana M. B., Nagaoka M. R., Amorim A. L., Cardoso A. N., Rodrigues B. C., Mendes N. F., Bittencourt J. C., Céspedes I. C. Behavioral alterations and fos protein immunoreactivity in brain regions of bile duct-ligated cirrhotic rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2015, vol. 87, no. 1, pp. 331–341. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201420130262>
5. Zimatkin S. M., Baraban O. V., Emel'yanchik S. V. Metabolic changes in rat brain histaminergic neurons in dynamics of subhepatic cholestasis. *Morfologiya [Morphology]*, vol. 132, no. 4, pp. 27–30 (in Russian).
6. Emel'yanchik S. V., Zimatkin S. M. Structural and histochemical changes in rat parietal cerebral cortex neurons subjected to biliary drainage. *Morfologiya [Morphology]*, vol. 141, no. 2, pp. 7–12 (in Russian).
7. Emel'yanchik S. V., Zimatkin S. M. Structural and histochemical changes in the rat cerebellum Purkinje cells after cholestasis. *Morfologiya [Morphology]*, 2013, vol. 143, no. 2, pp. 019–023 (in Russian).
8. Fenster C. P., Chisnell H. K., Fry C. R., Fenster S. D. The role of CD4-dependent signaling in interleukin-16 induced c-Fos expression and facilitation of neurite outgrowth in cerebellar granule neurons. *Neuroscience Letters*, 2010, vol. 485, no. 3, pp. 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.09.014>
9. Fukuchi M., Sanabe T., Watanabe T., Kubota T., Tabuchi A., Tsuda M. Distinct regulation of activity-dependent transcription of immediate early genes in cultured rat cortical neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, vol. 490, no. 3, pp. 682–687. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.06.101>
10. Moretto J. N., Duffy Á. M., Scharfman H. E. Acute restraint stress decreases c-fos immunoreactivity in hilar mossy cells of the adult dentate gyrus. *Brain Structure and Function*, 2017, vol. 222, no. 5, pp. 2405–2419. <https://doi.org/10.1007/s00429-016-1349-z>
11. Breitman D. R., Lee S. S. Blunted responsiveness of the neuronal activation marker Fos in brainstem cardiovascular nuclei of cirrhotic rats. *Hepatology*, 1997, vol. 26, no. 6, pp. 1380–1385. <https://doi.org/10.1002/hep.510260601>
12. Méndez M., Méndez-López M., López L., Aller M. A., Arias J., Arias J. L. Working memory impairment and reduced hippocampal and prefrontal cortex c-Fos expression in a rat model of cirrhosis. *Physiology & Behavior*, 2008, vol. 95, no. 3, pp. 302–307. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.06.013>
13. Kizyukevich L. S. *Reactive changes in the kidneys in experimental cholestasis*. Grodno, Grodno State Medical University Publ., 2005. 239 p. (in Russian).
14. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed. London, Academic Press Publ., 2007. 448 p.
15. Albertini G., Walrave L., Demuyser T., Massie A., De Bundel D., Smolders I. 6 Hz corneal kindling in mice triggers neurobehavioral comorbidities accompanied by relevant changes inc-Fos immunoreactivity throughout the brain. *Epilepsia*, 2018, vol. 59, no. 1, pp. 67–78. <https://doi.org/10.1111/epi.13943>
16. Galluzzi L., Blomgren K., Kroemer G. Mitochondrial membrane permeabilization in neuronal injury. *Nature Reviews Neuroscience*, 2009, vol. 10, no. 7, pp. 481–494.
17. Lin M. T., Beal M. F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 2006, vol. 443, no. 7113, pp. 787–795. <https://doi.org/10.1038/nature05292>

Информация об авторах

Емельянчик Сергей Владимирович – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Гродненский государственный университет им. Я. Купалы (пер. Доватора, 3/1, 230012, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: semel@grsu.by

Карнюшко Ольга Анатольевна – ассистент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: karnyushko-olga@mail.ru

Зиматкин Сергей Михайлович – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: smzimatkina@mail.ru

Information about the authors

Sergey V. Yemialyanchik – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Yanka Kupala State University of Grodno (3/1, Dovator Str., 230012, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: semel@grsu.by

Olga A. Karnyushko – Assistant. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus).

Sergey M. Zimatkin – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: smzimatkina@mail.ru