

## Нейроглобин в нейронах мозга крысы

Е.В. Узлова, С.М. Зиматкин

*Гродненский государственный медицинский университет  
Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80*

### Резюме

Нейроглобин является металлопротеином, экспрессирующимся преимущественно в нервной системе и участвующим в функционировании клеток в норме и при патологии. Несмотря на многочисленные исследования, сведения о его региональном распределении неоднозначны. **Цель исследования** – выявление закономерностей и особенностей регионального распределения нейроглобина в нейронах всех структур мозга крысы с количественной оценкой его содержания на клеточном уровне. **Материал и методы.** В исследовании использовано 5 беспородных белых крыс-самцов, содержащихся в стандартных условиях. После декапитации, фиксации, обезвоживания и заключения в парафин изготавливались фронтальные серийные срезы. Один срез серии окрашивали по Нисслю для идентификации структур по стереотаксическому атласу, второй – иммуногистохимически на нейроглобин. Цитофотометрически изучено 100 структур мозга, иммунореактивность нейроглобина выражали в единицах оптической плотности  $\times 10^3$  (условные единицы). **Результаты и их обсуждение.** Выделено четыре уровня содержания нейроглобина в нейронах – низкий, умеренный, высокий и очень высокий. Структур без нейроглобина не обнаружено. В исследованных структурах мозга его содержание варьирует в пределах от 140–160 до 459–497 условных единиц. В абсолютном большинстве структур обнаружено низкое и умеренное количество нейроглобина. Среди отделов головного мозга наблюдается возрастание содержания металлопротеина в направлении: конечный мозг – промежуточный мозг – средний мозг – мост и продолговатый мозг. Наиболее широкий разброс значений характерен для конечного мозга, моста и продолговатого мозга. В мозжечке наибольшие значения демонстрируют вставочное ядро и клетки Пуркиньи пирамиды. **Заключение.** Нейроглобин содержится в нейронах всех отделов головного и спинного мозга крысы. Количество металлопротеина зависит от филогенетического возраста: в головном мозге его содержание возрастает в переднезаднем направлении, а структуры палеокортекса содержат больше нейроглобина, чем структуры неокортекса. В мозжечке большее количество нейроглобина содержат структуры палеоцереbellума.

**Ключевые слова:** нейроглобин, иммуногистохимия, нейроны, головной мозг, спинной мозг, крыса.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Автор для переписки:** Узлова Е.В., e-mail: uzlovaliza@gmail.com

**Для цитирования:** Узлова Е.В., Зиматкин С.М. Нейроглобин в нейронах мозга крысы. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2021; 41 (4): 30–39. doi: 10.18699/SSMJ20210404

## Neuroglobin in rat brain neurons

E.V. Uzlova, S.M. Zimatkin

*Grodno State Medical University  
Republic of Belarus, 230009, Grodno, Gorky str., 80*

### Abstract

Neuroglobin is a metalloprotein expressed predominantly in a nervous system and involved in the functioning of cells in normal and pathological conditions. Despite numerous studies, information on its regional distribution is ambiguous. **The purpose of the study** is to identify patterns and features of the regional distribution of neuroglobin in neurons of all structures of the rat brain with a quantitative assessment of its content at the cellular level. **Material and methods.** Five outbred male rats kept under standard conditions were used in the study. Frontal serial sections were made after decapitation, fixation, dehydration and paraffin-embedding. One section of the series was stained according to the Nissl method for identification of structures according to the stereotaxic atlas, and the second section was immunohistochemically stained for neuroglobin. 100 brain structures were studied cytophotometrically, neuroglobin immunoreactivity was expressed

in units of optical density  $\times 10^3$  (conventional units). **Results and discussion.** Four levels of neuroglobin content were identified – low, moderate, high and very high. Structures without neuroglobin were not found. Among the studied brain structures the amount of neuroglobin contents varies from 140–160 to 459–479 relative units. The low and moderate neuroglobin amount was revealed in supreme number of structures. Among the parts of the brain there is an increase in the content of neuroglobin in the direction telencephalon – diencephalon – midbrain – pons and medulla oblongata. The widest range of values is found in the telencephalon, pons and medulla oblongata. In the cerebellum the largest values are demonstrated by the interposed nucleus and the Purkinje cells of the pyramid. **Conclusion.** Neuroglobin has been found in neurons in all parts of the rat brain and spinal cord. The amount of neuroglobin depends on phylogenetic age: in the brain its content increases in the anteroposterior direction, and structures of paleocortex contain more neuroglobin than the structures of the neocortex. In the cerebellum a greater amount of neuroglobin is found in structures of the paleocerebellum.

**Key words:** neuroglobin, immunohistochemistry, neurons, brain, spinal cord, rat.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Correspondence author:** Uzlova E.V., e-mail: uzlovaliza@gmail.com

**Citation:** Uzlova E.V., Zimatkin S.M. Neuroglobin in rat brain neurons. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021; 41 (4): 30–39. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210404

## Введение

Нейроглобин (Ngb) – эволюционно высококонсервативный металлопротеин семейства глобинов, который содержит протопорфирин с атомом железа в центре, образующим шесть координационных связей [1–5]. Ngb экспрессируется преимущественно в нервной системе, сетчатке и некоторых эндокринных структурах [1, 6, 7]. Сходство структуры Ngb с другими глобиновыми белками [8] позволяет предположить и сходные функции обеспечения кислородного гомеостаза клеток [4]. Но поскольку уровень сродства Ngb к кислороду очень высок, и это является серьезным препятствием для высвобождения кислорода [9–11], данный металлопротеин все чаще фигурирует как сенсор уровня кислорода в митохондриях, окисляющих органические вещества и образующих АТФ [12–14]. Также считается, что Ngb регулирует функционирование клетки при патологии: подавляет окислительный стресс, блокирует митохондриальные факторы апоптоза, связывает свободные радикалы и оксид азота [3, 4, 15–17]. Хорошо исследована нейропротекторная функция Ngb в условиях его сверхэкспрессии [18–22], однако до сих пор не ясно, можно ли экстраполировать полученные данные на эндогенные количества металлопротеина [23, 24].

Известно, что экспрессия Ngb различается клеточно и регионально. На клеточном уровне Ngb обнаруживается в цитоплазме, везикулярных структурах, нейротрубочках, ядре и митохондриях [4, 25, 26]. Сведения о региональном распределении Ngb в структурах мозга неоднозначны – сообщается как о повсеместном распространении Ngb [27], так и о концентрации его в отдельных структурах [25, 28–30]. Известно и то, что количество Ngb может существенно увеличиваться

при патологии [31]. Таким образом, региональное распределение Ngb в мозге, его закономерности и особенности до сих пор остаются не установленными, что и определяет актуальность нашей работы. В предварительном исследовании мы показали присутствие Ngb в некоторых структурах мозга, но без его количественной оценки [32].

Цель исследования – выявить закономерности и особенности регионального распределения Ngb в нейронах всех структур мозга крысы с количественной оценкой его содержания на клеточном уровне.

## Материал и методы

Для исследования использован материал от пяти беспородных белых крыс-самцов массой 220–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария на полноценном рационе. Соблюдались все требования Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. На проведение исследования получено разрешение Комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 15.01.2020). Проводилась быстрая декапитация крыс в утренние часы, быстро извлекали головной мозг и шейный отдел спинного мозга. Головной мозг делили на три части фронтальными разрезами. Образцы фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [33] при +4 °C в течение 20 ч, затем обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилолах и заключали в парафин. Серийные фронтальные срезы мозга толщиной 5 мкм готовили через каждые 500 мкм с использованием микротомы Leica 2125 RTS

(Leica Microsystems GmbH, Германия) и монтировали на заранее подготовленные стекла.

Один срез из каждой серии окрашивали по методу Ниссля для идентификации структур мозга по атласу [34], другой – иммуногистохимически для выявления содержания Ngb. Применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-Neuroglobin antibody (Abcam, Великобритания, ab. 37258) в разведении 1:600 (выбрано как оптимальное из серии разведений 1:100 – 1:2000), экспозиция 20 ч при +4 °С во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit (Abcam, ab. 80436).

В качестве положительного контроля использовали ткани, органы и клетки с известным высоким содержанием Ngb, отрицательного – срезы, которые вместо первичных антител обрабатывали нормальной кроличьей сывороткой (иммунопозитивная окраска в них отсутствовала). Дополнительным внутренним отрицательным контролем служили мозговые оболочки (иммунопозитивная окраска в них должна была отсутствовать).

Изучение препаратов, микрофотографирование и цитофотометрию в структурах мозга проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus

(Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США). Всего изучено 100 структур мозга. Иммунореактивность Ngb выражали в единицах оптической плотности  $\times 10^3$  (условные единицы, усл. ед.).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США; серийный номер 31415926535897). Данные представлены в виде значения медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR).

### Результаты и их обсуждение

Мы выделили четыре уровня содержания Ngb в нейронах: низкий (+), умеренный (++) , высокий (+++) и очень высокий (++++). Структуры, в нейронах которых Ngb отсутствует, не обнаружены, т.е. можно утверждать о повсеместном распространении Ngb в пределах серого вещества головного и спинного мозга, что согласуется с данными Wystub et al. [27]. Кроме того, повсеместное присутствие глобина указывает на его исключительную важность для работы нейронов и нервной системы (таблица).

**Таблица.** Содержание Ngb в нейронах структур мозга крысы, усл. ед.

**Table.** Ngb content in neurons of rat brain structures, relative units

Структура		Уровень Ngb	Содержание Ngb (Me±IQR)
1		2	3
Конечный мозг			
Пириформная кора, II слой		+	215,0±62,3
Гиппокамп, II слой	Поле CA1	+	196,0±77,7
	Поле CA2	++	275,9±75,1
	Поле CA3	+	223,0±156,3
Зубчатая извилина, II слой		+	184,5±106,8
Пресубикулум	II слой	+	201,9±52,7
	III слой	+	208,9±37,0
	IV слой	+	207,1±52,8
	V слой	+	209,0±43,0
	VI слой	+	217,8±51,8
Париетальная кора	II слой	+	176,6±67,1
	III слой	+	190,9±50,0
	V слой	++	272,6±97,7
	VI слой	+	208,8±154,3

	1	2	3
Поясная (цингулярная) кора	II слой	+	154,0±40,8
	III слой	+	178,6±54,9
	V слой	+	224,5±104,2
	VI слой	+	198,8±48,0
Фронтальная кора	II слой	+	173,8±48,4
	III слой	+	169,7±48,4
	IV слой	+	190,6±58,6
	V слой	++	235,0±83,8
	VI слой	++	258,2±79,9
Височная кора	II слой	+	150,9±69,7
	III слой	+	150,4±55,7
	IV слой	+	157,2±42,1
	V слой	+	168,4±39,8
	VI слой	+	150,0±94,7
Затылочная (зрительная) кора	II слой	+	209,1±62,2
	III слой	+	205,2±52,23
	IV слой	+	186,0±90,8
	V слой	+	203,5±99,6
	VI слой	+	232,6±77,8
Ретроспленальная (агранулярная) кора	II слой	+	217,0±44,0
	III слой	+	220,0±67,5
	V слой	++	257,0±145,9
	VI слой	++	263,8±76,6
Моторная кора	II слой	+	140,2±30,6
	III слой	+	193,8±38,2
	V слой	+	218,2±7,3
	VI слой	+	191,1±59,9
Слой митральных клеток		+	164,1±64,0
Базомедиальное ядро миндалины		+	182,9±73,2
Базолатеральное ядро миндалины		+	185,8±79,5
Медиальное ядро миндалины		+	196,8±44,5
Скорлупа		+	215,5±52,3
Латеральное ядро миндалины		++	239,9±80,2
Боковое обонятельное ядро		++	280,8±70,2
<b>Промежуточный мозг</b>			
Таламус			

1	2	3
Вентральное постеролатеральное таламическое ядро	++	242,2±82,8
Ядра задней группы таламуса	++	242,3±103,6
Вентральное постеромедиальное таламическое ядро	++	252,5±101,9
Интермедиодорсальное ядро	++	278,7±69,4
Центральное медиальное ядро	++	279,9±44,5
Латеральное постеральное таламическое ядро	++	280,7±61,3
Медиальное габенулярное ядро	++	280,9±97,9
Латеродорсальное вентролатеральное ядро таламуса	+++	320,9±117,9
Паравентрикулярное ядро таламуса	+++	333,9±131,0
<b>Гипоталамус</b>		
Латеральная гипоталамическая область	+	174,4±43,0
Вентромедиальное ядро, дорсомедиальное	+	210,8±90,7
Вентромедиальное ядро, вентролатеральное	+	214,4±48,3
Медианное маммилярное (сосцевидное) ядро	+	228,4±63,1
Дорсомедиальное ядро	++	253,4±38,0
Дугообразное ядро	++	257,8±46,3
Супрамаммилярное ядро	++	299,5±83,8
Гистаминергическое ядро E2	+++	342,4±96,1
<b>Средний мозг</b>		
Ретикулярное вещество черной субстанции	+	209,0±66,9
Верхняя область покрышки	+	216,976±50,0
Красное ядро	++	233,7±70,2
Компактное вещество черной субстанции	++	240,1±42,3
Мезенцефалическое ядро тройничного нерва	++	293,2±9,9
Интерпедункулярное ядро	++	304,6±155,8
Дорсальное ядро шва	++	305,0±88,7
<b>Мост и продолговатый мозг</b>		
Медианное добавочное ядро	+	222,2±74,4
Спинальное ядро тройничного нерва	++	230,1±35,0
Медулярное ретикулярное ядро (вентральное)	++	231,5±52,9
Ядро Бурдаха	++	234,0±65,1
Ядро подъязычного нерва	++	238,8±77,5
Ядро пучка Пробста	++	244,5±55,5
Ядро Голля (ядро тонкого пучка)	++	244,6±59,8
Медулярное ретикулярное поле (дорсальное)	++	246,5±55,2
Препозитарное подъязычное ядро	++	254,7±73,6
Дорсальное моторное ядро блуждающего нерва	++	267,5±115,1
Ретровентролатеральное ретикулярное ядро	++	275,5±54,4
Гигантоцеллюлярное ядро	++	282,4±68,8
Медиальное вестибулярное ядро	+++	323,5±105,6
Адреналинергическая группа нейронов C1	+++	324,4±98,6
Латеральное ретикулярное ядро	+++	334,8±92,7
Ядро нижней оливы	+++	336,5±134,5
Ядро лицевого нерва	+++	363,1±133,3
Большое ядро шва	+++	393,7±124,3
Вестибулокохлеарный ганглий	++++	497,6±149,7
<b>Мозжечок</b>		
Простая доля: клетки Пуркинью	+	162,7±105,5

1		2	3
Околочлок: клетки Пуркинье		+	207,8±85,0
Парамедианная доля: клетки Пуркинье		+	219,1±50,0
Пирамида: клетки Пуркинье		++	246,7±40,6
Медиальное ядро		++	252,6±52,5
Латеральное ядро		++	256,2±80,1
Медиальное ядро, дорсолатеральное		++	268,2±43,2
Вставочное ядро		+++	326,3±108,7
<b>Спинальный мозг, шейный отдел</b>			
Вставочные нейроны задних рогов		+	204,1±75,9
Мотонейроны передних рогов:	Добавочное ядро	++++	410,0±124,4
	Центральное шейное ядро	++++	459,6±125,6

Выявлена высокая гетерогенность распределения Ngb в цитоплазме нейронов разных структур мозга крысы: от 140–160 усл. ед. в нейронах различных слоев моторной, височной коры и митральных клетках обонятельной луковицы (рис. 1, *a*) до 459–497 усл. ед. в нейронах вестибулокохлеарного ядра головного мозга и центрального ядра спинного мозга (см. таблицу, рис. 1, *б*).

Несмотря на повсеместное распространение Ngb, для большинства структур (50 %) характерен именно его низкий уровень, несколько реже встречаются структуры с умеренным уровнем (37 %), редко – с высоким (10 %). Очень высокое содержание Ngb обнаружено в единичных структурах и характерно исключительно для мотонейронов спинного мозга и вестибулокохлеарного ядра головного мозга (3 %) (см. таблицу). То есть для нормального функционирования нейронам большинства структур достаточно небольшого количества Ngb. Высокий и очень высокий уровни, скорее всего, ассоциированы с необходимостью более тщательного контроля уровня кислорода и АТФ в нейронах конкретных структур.

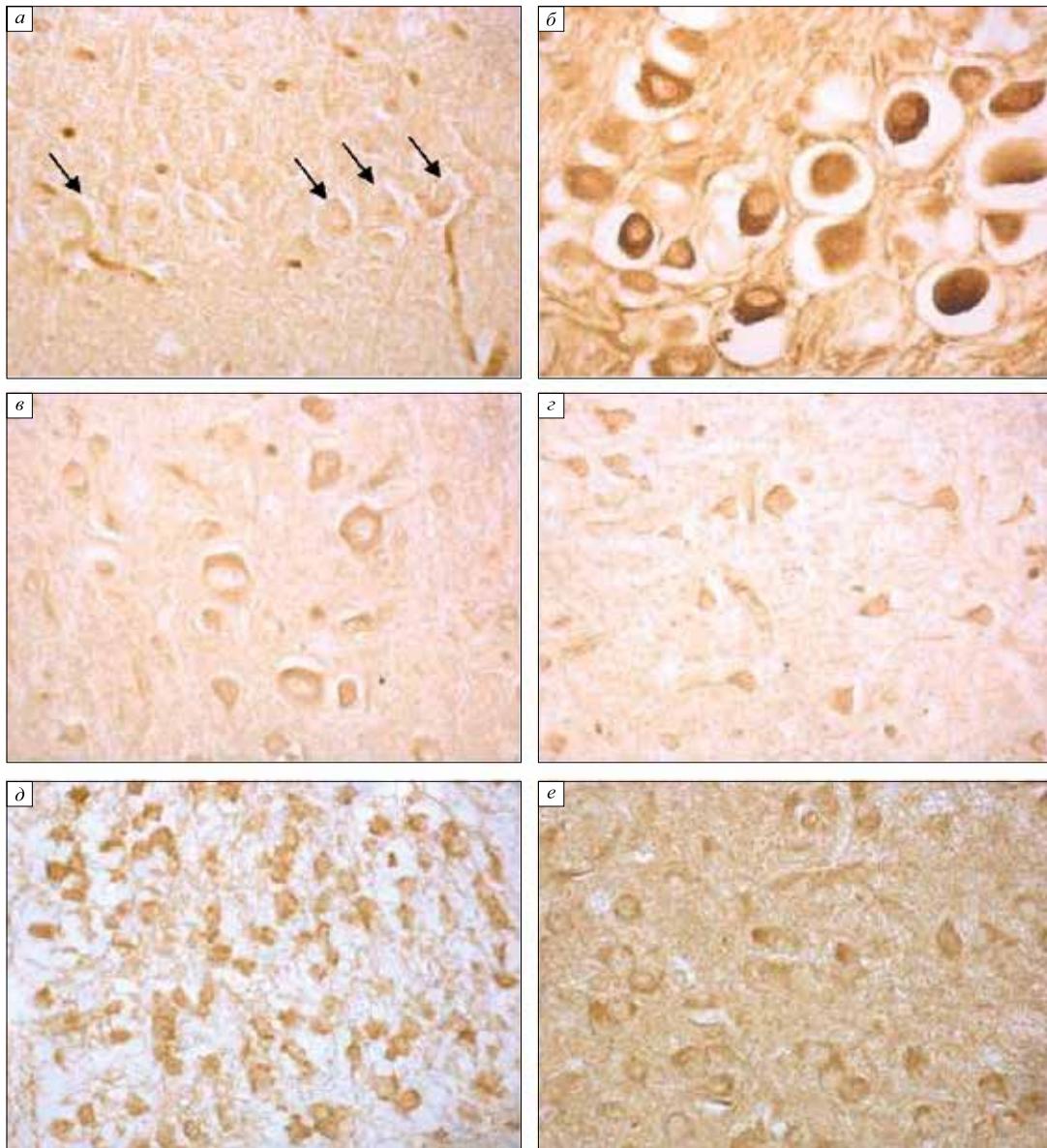
Но более высокий уровень Ngb-ИР не обязательно может быть ассоциирован с большей устойчивостью структуры к гипоксии. Результаты исследований роли Ngb при гипоксии/ишемии, проведенных на животных дикого типа и с дефицитом Ngb [22, 23, 25], ставят под сомнение нейропротекторную роль белка. Возможно, большее количество Ngb позволяет более эффективно компенсировать малейшие изменения уровня кислорода и АТФ в нейронах и быстрее на них реагировать, но не обеспечивать клетку дополнительным кислородом, что в случае длительного дефицита последнего приведет к серьезным повреждениям нейронов. Кроме того, по данным Y. Sun et al. [18], увеличение экспрессии Ngb не связано с усилением потребления кислорода ней-

ронами, т.е. даже при сверхэкспрессии в физиологических условиях Ngb не может высвобождать кислород. В условиях гипоксии, возможно, условия позволяют Ngb и выступать в качестве сенсора дефицита кислорода и АТФ, и высвобождать кислород, что могло бы объяснить обнаруженный нейропротекторный эффект Ngb при сверхэкспрессии [18, 19, 21].

Среди отделов структур головного мозга крысы наблюдается тенденция к увеличению уровня Ngb в ряду: конечный мозг – промежуточный мозг (рис. 1, *д*, *e*) – средний мозг (рис. 2, *a*) – мост и продолговатый мозг (рис. 2, *б*), т.е. по мере увеличения филогенетического возраста структур. Это в большей степени не соответствует биохимическим данным о концентрации Ngb в конкретных отделах мозга [25, 28–30] (см. таблицу), возможно, потому, что в образцы мозга для биохимического анализа попадают не только тела нейронов, но и белое вещество и глиальные клетки.

Так же филогенетический возраст структур влияет на количество Ngb в структурах коры: в архи- и палеокортексе оно несколько больше, чем в неокортексе. Для коры наблюдается еще и увеличение содержания Ngb по мере продвижения к глубоким слоям (см. рис. 1, *в*, *з*). Чаще всего максимальный уровень Ngb в пределах одного типа коры приходится на нейроны V слоя (см. рис. 1, *в*) – слой больших пирамидных нейронов, содержащий большое количество крупных нейронов.

В целом достаточно широкий разброс содержания Ngb (гетерогенность) характерен для всех отделов мозга крысы, но особенно – для конечного мозга (от 140 до 281 усл. ед.), моста и продолговатого мозга (от 222 до 497 усл. ед.). В конечном мозге это, вероятнее всего, является следствием филогенетического, высокого структурного и функционального разнообразия струк-



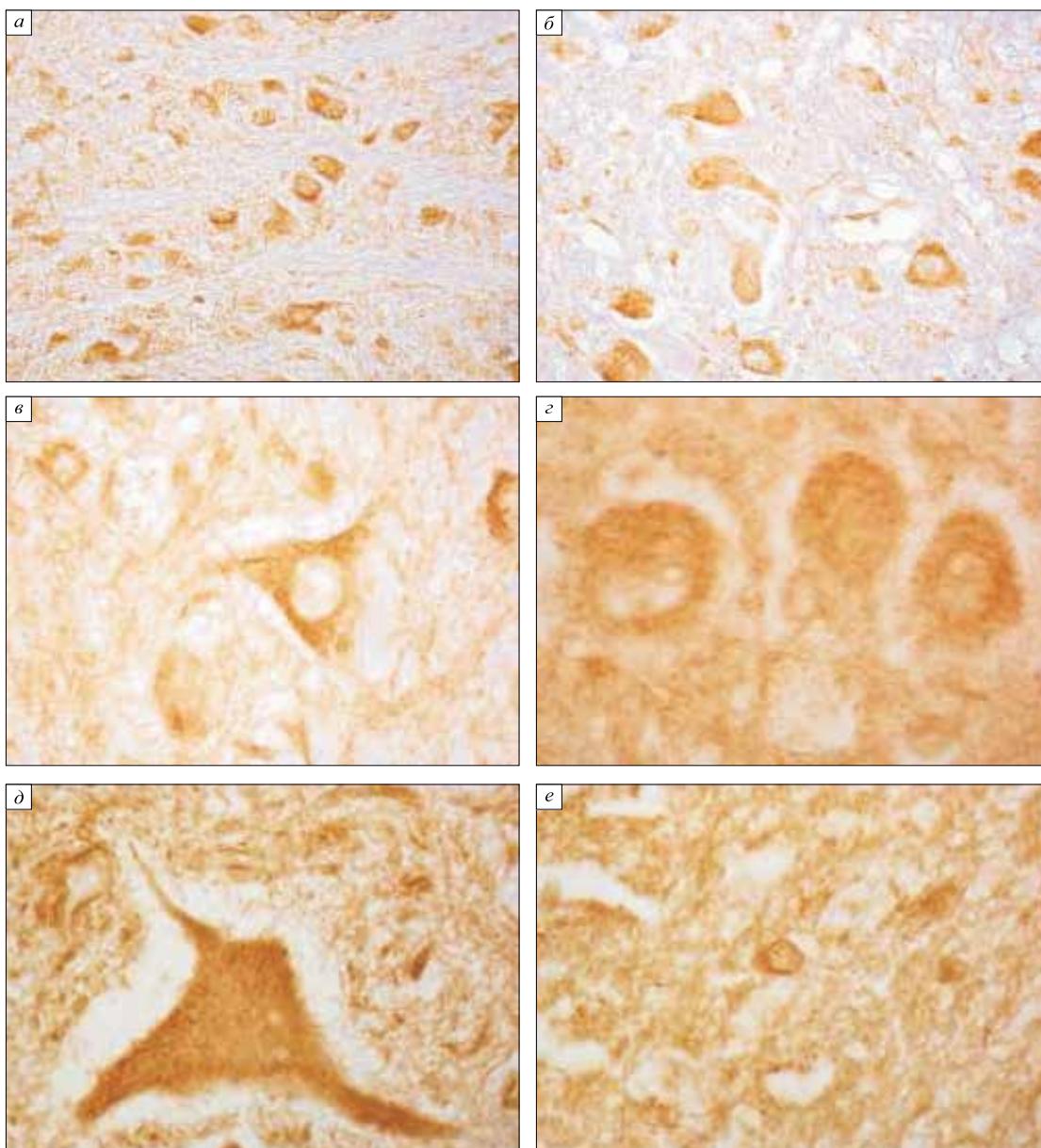
**Рис. 1.** Митральные клетки обонятельной луковицы (а), нейроны вестибулокохлеарного узла (б), нейроны V (в) и VI (з) слоев парietальной коры, медиального габенулярного ядра таламуса (д), латеральной гипоталамической области (е). Стрелками показаны собственно митральные клетки. Иммуногистохимическая окраска на нейроглобин, ув. 400

**Fig. 1.** Mitral cells of the olfactory bulb (а), neurons of the vestibulocochlear ganglion (б), of the parietal cortex layers V (в) and VI (з), of the thalamus medial geniculate nucleus (д), of the lateral hypothalamic region (е). Arrows indicate the actual mitral cells. Immunohistochemical staining for neuroglobin, magnification 400

тур. В мосте и продолговатом мозге гетерогенность достигается за счет большого ядра шва и вестибулокохлеарного ганглия. Скорее всего, столь большое содержание в данных структурах Ngb является следствием необходимости жесткого контроля в них уровня кислорода и АТФ из-за высокой функциональной нагрузки: вестибулокохлеарный ганглий содержит тела биполярных чувствительных нейронов (это единственные рецепторные нейроны мозга), а большое ядро шва получает информацию от большого количества

структур – центрального преакведуктального серого вещества, ядер миндалина, гипоталамуса, различных отделов коры – и отсылает импульсы к передним рогам спинного мозга.

Отдельного внимания заслуживает вопрос распределения Ngb в мозжечке. Установлено, что нейроны ядер мозжечка (рис. 2, в) содержат больше Ngb, чем клетки Пуркинью коры мозжечка (рис. 2, з). Вставочное ядро и клетки Пуркинью пирамиды, демонстрирующие наибольший уровень Ngb, относятся к древней части мозжечка,



**Рис. 2.** Нейроны глубоких слоев серого вещества верхнего двуххолмия (а), ядра лицевого нерва (б), вставочного ядра мозжечка (в), клеток Пуркинье пирамиды коры мозжечка (г), мотонейрон передних рогов шейного отдела спинного мозга (д) и вставочный нейрон задних рогов (е). Иммуногистохимическая окраска на Ngb, ув. 400 (а, б) и 1000 (в–е)

**Fig. 2.** Neurons of deep layers of grey matter of superior colliculus (a), of facial nerve nucleus (б), of interposed nucleus of cerebellum (в), of Purkinje cells of cerebellar cortex pyramid (г), motor neuron of anterior horn of the spinal cord cervical region (д) and interneuron of the posterior horn (e). Immunohistochemical staining for neuroglobin, magnifications 400 (a, b) and 1000 (в–е)

палеocerebellуму (спинocerebellуму), связанному со спинным мозгом.

В шейном отделе спинного мозга содержание Ngb значительно различается в передних (рис. 2, д) и задних (рис. 2, е) рогах серого вещества. В мотонейронах передних рогов оно в два раза больше, чем во вставочных, ассоциативных нейронах задних рогов. Неодинаково количество Ngb и в структурах, образованных мотонейронами, что видно на примере добавочного и централь-

ного шейного ядра. Содержание Ngb различается в слоях (пластинках) серого вещества, наиболее интенсивное иммуоокрашивание наблюдается в пластинках с VI по X, что объясняется их структурными и функциональными различиям: нейроны этих слоев преимущественно крупные, отвечают за связь между левой и правой частями спинного мозга, между сегментами и иннервируют мускулатуру туловища.

## Заключение

Нейроглобин обнаружен в нейронах всех отделов головного и спинного мозга крысы; преобладают структуры с низким или умеренным его количеством. Существует отчетливая тенденция к увеличению содержания Ngb в нейронах структур головного мозга крысы в переднезаднем направлении: конечный, промежуточный, средний, задний мозг, спинной мозг, что совпадает с возрастом филогенетического возраста структур. В коре мозга уровень Ngb в палеокортексе также выше, чем в неокортексе. Кроме того, в коре наблюдается возрастание содержания Ngb от наружных слоев к более глубоким. Большим количеством Ngb характеризуются нейроны ядер мозжечка в сравнении с клетками Пуркиньи коры мозжечка; в палеоцереbellуме оно больше, чем в неocerebellуме.

## Список литературы / References

1. Burmester T., Weich B., Reinhardt S., Hankeln T. A vertebrate globin expressed in the brain. *Nature*. 2000; 407 (6803): 520–523. doi: 10.1038/35035093
2. Herold S., Fago A., Weber R.E., Dewilde S., Moens L. Reactivity studies of the Fe(III) and Fe(II) NO forms of human neuroglobin reveal a potential role against oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (22): 22841–22847. doi: 10.1074/jbc.M313732200
3. Wystub S., Ebner B., Fuchs C., Weich B., Burmester T., Hankeln T. Interspecies comparison of neuroglobin, cytoglobin and myoglobin: sequence evolution and candidate regulatory elements. *Cytogenet. Genome Res.* 2004; 105 (1): 65–78. doi: 10.1159/000078011
4. Hankeln T., Ebner B., Fuchs C., Frank G., Haberkamp M., Laufs T.L., Roesner A., Schmidt M., Weich B., Wystub S., Saaler-Reinhardt S., Reuss S., Bolognesi M., de Sanctis D., Marden M.C., Kiger L., Moens L., Dewilde S., Nevo E., Avivi A., Weber R.E., Fago A., Burmester T. Neuroglobin and cytoglobin in search of their role in the vertebrate globin family. *J. Inorg. Biochem.* 2005; 99 (1): 110–119. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2004.11.009
5. Tosqui P., Colombo M.F. Neuroglobin and cytoglobin: two new members of globin family. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2011; 33 (4): 307–311. doi: 10.5581/1516-8484.20110082
6. Reuss S., Saaler-Reinhardt S., Weich B., Wystub S., Reuss M.H., Burmester T., Hankeln T. Expression analysis of neuroglobin mRNA in rodent tissues. *Neuroscience*. 2002; 115 (3): 645–656. doi: 10.1016/s0306-4522(02)00536-5
7. Schmidt M., Giessel A., Laufs T., Hankeln T., Wolfrum U., Burmester T. How does the eye breathe? Evidence for neuroglobin-mediated oxygen supply in the mammalian retina. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (3): 1932–1935. doi: 10.1074/jbc.M209909200
8. Dewilde S., Kiger L., Burmester T., Hankeln T., Baudin-Creuzat V., Aerts T., Marden M.C., Caubergs R., Moens L. Biochemical characterization and ligand binding properties of neuroglobin, a novel member of the globin family. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (42): 38949–38955. doi: 10.1074/jbc.M106438200
9. Trent J.T. 3rd, Watts R.A., Hargrove M.S. Human neuroglobin, a hexacoordinate hemoglobin that reversibly binds oxygen. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (32): 30106–30110. doi: 10.1074/jbc.C100300200
10. Hamdane D., Kiger L., Dewilde S., Green B.N., Pesce A., Uzan J., Burmester T., Hankeln T., Bolognesi M., Moens L., Marden M.C. The redox state of the cell regulates the ligand binding affinity of human neuroglobin and cytoglobin. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (51): 51713–51721. doi: 10.1074/jbc.M309396200
11. Pesce A., Dewilde S., Nardini M., Moens L., Ascenzi P., Hankeln T., Burmester T., Bolognesi M. Human brain neuroglobin structure reveals a distinct mode of controlling oxygen affinity. *Structure*. 2003; 11 (9): 1087–1095. doi: 10.1016/s0969-2126(03)00166-7
12. Burmester T., Haberkamp M., Mitz S., Roesner A., Schmidt M., Ebner B., Gerlach F., Fuchs C., Hankeln T. Neuroglobin and cytoglobin: genes, proteins and evolution. *IUBMB Life*. 2004; 56 (11–12): 703–707. doi: 10.1080/15216540500037257
13. Fordel E., Thijs L., Moens L., Dewilde S. Neuroglobin and cytoglobin expression in mice. *FEBS J.* 2007; 274 (5): 1312–1317. doi: 10.1111/j.1742-4658.2007.05679.x
14. Yu Z., Poppe J.L., Wang X. Mitochondrial mechanisms of neuroglobin's neuroprotection. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013; 2013: 756989. doi: 10.1155/2013/756989
15. Ott M., Robertson J.D., Gogvadze V., Zhitovovskiy B., Orrenius S. Cytochrome c release from mitochondria proceeds by a two-step process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (3): 1259–1263. doi: 10.1073/pnas.241655498
16. Jin K., Mao Y., Mao X., Xie L., Greenberg D.A. Neuroglobin expression in ischemic stroke. *Stroke*. 2010; 41 (3): 557–559. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.567149
17. Wakasugi K., Takahashi N., Uchida H., Watanabe S. Species-specific functional evolution of neuroglobin. *Mar. Genomics*. 2011; 4 (3): 137–142. doi: 10.1016/j.margen.2011.03.001
18. Sun Y., Jin K., Mao X.O., Zhu Y., Greenberg D.A. Neuroglobin is up-regulated by and protects neurons from hypoxic-ischemic injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98 (26): 15306–15311. doi: 10.1073/pnas.251466698
19. Sun Y., Jin K., Peel A., Mao X.O., Xie L., Greenberg D.A. Neuroglobin protects the brain from experimental stroke *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100 (6): 3497–3500. doi: 10.1073/pnas.0637726100

20. Khan A.A., Wang Y., Sun Y., Mao X.O., Xie L., Miles E., Graboski J., Chen S., Ellerby L.M., Jin K., Greenberg D.A. Neuroglobin-overexpressing transgenic mice are resistant to cerebral and myocardial ischemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103 (47): 17944–17948. doi:10.1073/pnas.0607497103
21. Li R.C., Guo S.Z., Lee S.K., Gozal D. Neuroglobin protects neurons against oxidative stress in global ischemia. *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* 2010; 30 (11): 1874–1882. doi: 10.1038/jcbfm.2010.90
22. Raida Z., Hundahl C.A., Nyengaard J.R., Hay-Schmidt A. Neuroglobin over expressing mice: expression pattern and effect on brain ischemic infarct size. *PLoS One*. 2013; 8 (10): e76565. doi: 10.1371/journal.pone.0076565
23. Schmidt-Kastner R., Haberkamp M., Schmitz C., Hankeln T., Burmester T. Neuroglobin mRNA expression after transient global brain ischemia and prolonged hypoxia in cell culture. *Brain Research*. 2006; 1103 (1): 173–180. doi: 10.1016/j.brainres.2006.05.047
24. Григорьев И.П., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Власов Т.Д., Коржевский Д.Э. Распределение нейроглобина в структурах переднего мозга крыс после транзиторной ишемии. *Асимметрия*. 2013; 7 (1): 15–21.
- Grigor'ev I.P., Gilerovich E.G., Kirik O.V., Vlasov T.D., Korzhevskij D.E. Distribution of neuroglobin in the structures of the forebrain of rats after transient ischemia. *Asimetriya = Asymmetry*. 2013; 7 (1): 15–21. [In Russian].
25. Hundahl C.A., Allen G.C., Hannibal J., Kjaer K., Rehfeld J.F., Dewilde S., Nyegaard J.R., Kelsen J., Hay-Schmidt A. Anatomical characterization of cytoglobin and neuroglobin mRNA and protein expression in the mouse brain. *Brain. Res.* 2010; 1331: 58–73. doi: 10.1016/j.brainres.2010.03.056
26. Lechavre C., Augustin S., Cwerman-Thibault H., Bouaita A., Forster V., Celier C., Rustin P., Marden M.C., Sahel J.-A., Corral-Debrinski M. Neuroglobin involvement in respiratory chain function and retinal ganglion cell integrity. *Biochim. Biophys. Acta*. 2012; 1823 (12): 2261–2273. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.09.009
27. Wystub S., Laufs T., Schmidt M., Burmester T., Maas U., Saaler-Reinhardt S., Hankeln T., Reuss S. Localization of neuroglobin protein in the mouse brain. *Neurosci. Lett.* 2003; 346 (1-2): 114–116. doi: 10.1016/s0304-3940(03)00563-9
28. Mammen P.P.A., Shelton J.M., Goetsch S.C., Williams S.C., Richardson J.A., Garry M.G., Garry D.J. Neuroglobin, a novel member of the globin family, is expressed in focal regions of the brain. *J. Histochem. Cytochem.* 2002; 50 (12): 1591–1598. doi: 10.1177/002215540205001203
29. Hundahl C.A., Kelsen J., Hay-Schmidt A. Neuroglobin and cytoglobin expression in the human brain. *Brain. Struct. Funct.* 2013; 218 (2): 603–609. doi: 10.1007/s00429-012-0480-8
30. Fabrizius A., Andre D., Laufs T., Bicker A., Reuss S., Porto E., Burmester T., Hankeln T. Critical re-evaluation of neuroglobin expression reveals conserved patterns among mammals. *Neuroscience*. 2016; 337: 339–354. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.07.042
31. Vorasubin N., Hosokawa S., Hosokawa K., Ishiyama G., Ishiyama A., Lopez I.A. Neuroglobin immunoreactivity in the human cochlea. *Brain. Res.* 2016; 1630: 56–63. doi: 10.1016/j.brainres.2015.11.002
32. Узлова Е.В., Зиматкин С.М. Распределение нейроглобина в структурах мозга крысы. *Новости мед.-биол. наук*. 2019; 19 (4): 43–47.
- Uzlova E.V., Zimatkin S.M. Distribution of neuroglobin in rat brain structures. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Biomedical Sciences*. 2019; 19 (4): 43–47. [In Russian].
33. Коржевский Д.Э., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Григорьев И.П., Сухорукова Е.Г., Алексеева О.С., Колос Е.А., Гусельникова В.В., Карпенко М.Н., Безнин Г.В. Иммуногистохимическое исследование головного мозга. СПб.: СпецЛит, 2016. 143 с.
- Korzhevsky D.E., Gilerovich E.G., Kirik O.V., Grigoriev I.P., Sukhorukova E.G., Alekseeva O.S., Kolos E.A., Gusel'nikova V.V., Karpenko M.N., Beznin G.V. Immunohistochemical study of the brain. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2016. 143 p. [In Russian].
34. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6nd ed. London: Academic Press, 2007. 456 p.

#### Сведения об авторах:

**Елизавета Валентиновна Узлова**, ORCID: 0000-0001-5916-4390, e-mail: uzlovaliza@gmail.com

**Сергей Михайлович Зиматкин**, д.б.н, проф., ORCID: 0000-0001-5728-2588, e-mail: smzimatkin@mail.ru

#### Information about the authors:

**Elizaveta V. Uzlova**, ORCID: 0000-0001-5916-4390, e-mail: uzlovliza@gmail.com

**Sergey M. Zimatkin**, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0001-5728-2588, e-mail: smzimatkin@mail.ru

Поступила в редакцию 16.03.2021

Принята к публикации 17.05.2021

Received 16.03.2021

Accepted 17.05.2021