

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

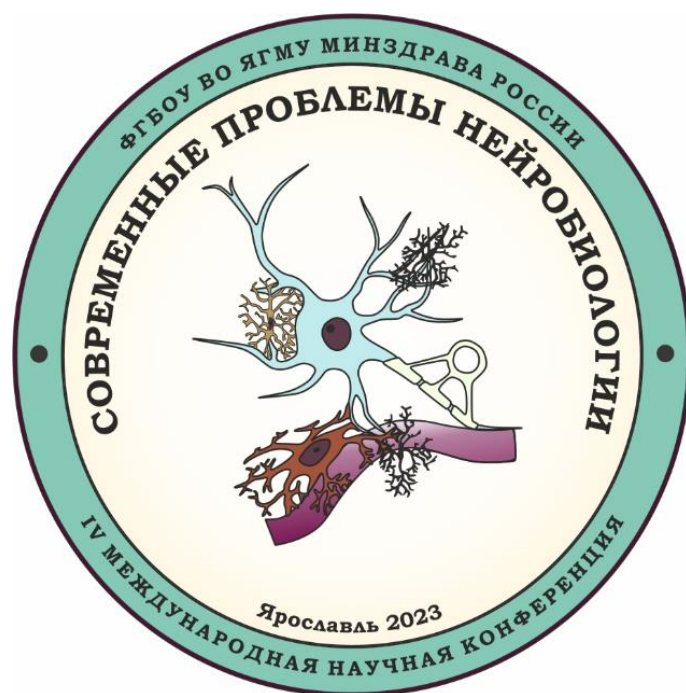
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина»

Ярославское отделение Физиологического общества им. И.П. Павлова

Ярославское отделение Всероссийского научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ НЕЙРОБИОЛОГИИ

*Материалы IV международной научной
конференции*



18-20 мая 2023 года
Ярославль

Печатается по решению редакционно-издательского совета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 612.8, 616.9

ББК 28.91

ISBN 978-5-9527-0497-8

Современные проблемы нейробиологии. Материалы IV международной научной конференции. – Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2023. – 85 с.

Редакционная коллегия:

Маслюков П.М. – доктор медицинских наук, профессор

Филиппов И.В. – доктор биологических наук, профессор

Пугачев К.С. – кандидат биологических наук, доцент (отв. редактор)

Малахов М.В. – кандидат биологических наук, доцент (редактор)

Моисеев К.Ю. – кандидат медицинских наук, преподаватель (редактор)

© федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2023 г.

ООО «Аверс плюс»
150000, г. Ярославль, ул. Победы, 34
Тел.: (4852) 97-69-22, 25-54-85

ВВЕДЕНИЕ



Данная конференция является четвертой и продолжает цикл проведенных в 2014, 2016 и 2018 г. в нашем вузе научных мероприятий, посвященных проблемам нейробиологии.

Предыдущие конференции имели широкий отклик, в них приняли участие ведущие представители профессорско-преподавательских и научных коллективов Москвы, Санкт-Петербурга, Казани, Воронежа, Архангельска, Ярославля и других городов. Показательно, что количество участников и гостей нашей конференции неизменно увеличивается. Доказательством эффективности конференции является налаженное сотрудничество и добрые человеческие связи между специалистами ведущих кафедр и лабораторий вуза с нашими уважаемыми коллегами из Москвы, Санкт-Петербурга и Казани.

Для многих ученых, преподавателей и студентов нашего университета нейробиология представляет особый интерес, не только потому, что этот раздел является одним из самых актуальных, но еще и потому, что интерес к изучению структурно-функциональных особенностей нервной системы имеет в нашей организации давнюю историю и традиционен для коллектива нашего высшего учебного заведения. Свидетельством тому являются уже сформировавшиеся научные школы, а также постоянно продолжающийся процесс формирования новых школ и направлений с участием сотрудников университета. Как результат всех этих процессов, 17.11.2009 г. в академии был создан научно-образовательный центр нейробиологических исследований.

Мы искренне надеемся на то, что данная конференция и материалы данного сборника вызовут интерес со стороны ученых, преподавателей и студентов, стимулируют углубление и дальнейшее развитие научного сотрудничества, послужат базой для дальнейшего прогресса в области современной нейробиологии.

Редколлегия

РЕЦЕПТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА В РЕГУЛЯЦИИ БОЛЕВЫХ РЕАКЦИЙ

Абрамова А.Ю., Перцов С.С., Никенина Е.В.

ФГБНУ «НИИНФ им. П.К. Анохина», Москва, Россия

Толл-подобные рецепторы (ТЛР, Toll-like receptors, TLRs) – ключевое звено в механизмах врожденного иммунного ответа, составляют первую линию защиты от инфекций, сигнализируя о присутствии патогенов, и играют ведущую роль в регуляции продукции цитокинов. Лигандами этих рецепторов – алармины (англ. «*alarm*» – опасность) – общее название молекулярных паттернов, способных инициировать в организме иммунный ответ. В эту группу входят как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (РАМР) различной биологической природы, так и дистресс-ассоциированные молекулярные паттерны (DAMP) – эндогенные лиганды TLRs.

В работах, посвященных изучению молекулярных механизмов болевых реакций у млекопитающих, большое внимание уделяется Толл-подобным рецепторам 4-го типа (TLR4), основными лигандами которых являются липополисахариды (ЛПС) и некоторые эндогенные молекулы из группы DAMP. ЛПС относятся к классу бактериальных антигенов, запускающих каскад иммунных реакций в ЦНС и периферических тканях, в том числе высвобождение цитокинов. Важно, что влияние ЛПС на болевую чувствительность зависит не только от дозы этого вещества, но и от способа их проникновения в организм млекопитающих. Так, при периферическом введении ЛПС установлено усиление болевой чувствительности, обусловленное развитием иммунных реакций в ответ на антигенное воздействие. Среди возможных центральных механизмов действия ЛПС на болевую чувствительность млекопитающих следует отметить модулирующее влияние этого вещества на нейрохимические процессы в головном мозге. Описаны серотонинергические и адренергические механизмы модуляции синаптической передачи при воздействии ЛПС. В основе его влияния на разнообразные физиологические функции могут лежать также опиоидергические процессы.

Результаты исследований на животных позволяют предположить, что активация спинальной микроглии является важным фактором в снижении степени гипералгезии и аллодинии. Образование комплекса экзогенный/эндогенный лиганд и TLR4 приводит к инициированию активации микроглии. Этот факт в сочетании с наличием взаимосвязи между функциональной активностью клеток микроглии и снижением болевого синдрома указывает на особую роль TLR4 в регуляции ноцицепции. Участие TLR4 в механизмах ноцицепции подтверждается данными о значении этих рецепторов в формировании патологических болевых состояний, таких как воспалительная и невропатическая боль.

Перспективным подходом к предупреждению или снижению степени иммунной дисфункции как при нарушениях болевой чувствительности, так и в условиях стрессорных воздействий может быть применение блокаторов TLRs. Влияние блокаторов Толл-подобных рецепторов на ноцицептивную чувствительность показано при разных способах их введения. В частности, установлено, что системное введение CLI-095 предотвращает развитие невропатической боли и аллодинии у животных. Кроме того, показано, что инъекция CLI-095 в префронтальную кору мозга препятствует формированию стресс-индуцированной хронической висцеральной боли.

Таким образом, накопленные данные о роли TLRs в механизмах формирования болевых реакций могут лечь в основу разработки новых лекарственных средств в комплексной терапии болевых синдромов различной этиологии.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОКСИДА АЗОТА В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ ТРАВМЫ И ГЕМОМРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА МОЗГА

Андрианов^{1,3} В.В., Яфарова^{1,3} Г.Г., Базан^{1,3} Л.В., Арсланов^{1,3} А.И., Бикчентаева^{1,3} Л.М., Филипович² Т.А., Шанько² Ю.Г., Кульчицкий² В.А., Гайнутдинов^{1,3} Х.Л.

¹ – Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия;

² – Центр мозга, Институт физиологии НАН Беларуси, лаборатория нейрофизиологии, Минск, Беларусь;

³ – Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

Патологические процессы, развивающиеся в мозге после деструкции нервной ткани и нарушения контроля витальных соматических и висцеральных функций организма, до сих пор не удается эффективно купировать. Одна из причин такой ситуации заключается в недостаточной изученности механизмов патогенеза инсультов и травм мозга [1]. С другой стороны, сходство в патогенезе церебральных повреждений различной природы свидетельствует о возможности выбора тактики терапии, защищающей от ишемии ткани мозга при инсультах, также и для пациентов с травмой мозга. Существует множество доказательств того, что нарушение биосинтеза оксида азота (NO) является ведущим фактором патофизиологической реакции мозга на гипоксию и ишемию. До сих пор противоречивы мнения в научной литературе о закономерностях коррекции уровня NO в мозге при патологии. При травмах мозга и при инсультах часто отмечается дисфункция эндотелия, проявляющаяся в ослаблении эндотелий-зависимого расслабления артерий, опосредуемого NO. Вполне логична компенсация дефицита NO с помощью доноров NO или путем активации синтеза NO в мозге фармакологическими и нефармакологическими методами [2]. Однако закономерности в сложном изменении уровня NO в ткани мозга при инсультах и травмах мозга недостаточно детализированы, что затрудняет проведение целенаправленной коррекции витальных функций.

В рамках представленной экспериментальной работы методом ЭПР-спектроскопии проведен сравнительный анализ интенсивности продукции NO и содержания меди в тканях гиппокампа самцов крыс линии Вистар после моделирования геморрагического инсульта и травмы головного мозга. Моделирование геморрагического инсульта осуществляли путем микроинъекции 500 нл аутологичной крови в мозг на глубину 5мм (гиппокамп) с левой стороны. Моделирование травмы мозга осуществляли путем удаления участка нервной ткани с глубины 5мм (гиппокамп) с левой стороны. Работы с животными проводили в Институте физиологии НАН Беларуси, г. Минск в соответствии с утвержденным протоколом Комиссии по этике Института. Установлено достоверное снижение содержания NO в гиппокампе на 3 сутки после моделирования геморрагического инсульта на 36% и недостоверное снижение содержания меди в среднем на 24%. Показано, что моделирование травмы головного мозга, в отличие от модели геморрагического инсульта (а также и от модели ишемического инсульта [3], исследованного нами ранее), не сопровождается достоверными изменениям продукции NO и содержания меди в гиппокампе мозга крыс. Кроме этого, исходя из тенденции снижения уровня меди (как показателя 1-й и 3-ей субъединиц супероксиддисмутазы), можно ожидать, что инсульт сопровождается не только снижением продукции NO, но и ослаблением антиоксидантной системы, что дополнительно ухудшает функциональное состояние нервной ткани. Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Список литературы:

1. Beydoun H.A. et al. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Feb 12; 100(6): e24438.
2. Deryagin et al. *Neurosci. Behav. Physiol.* 48 (1) 58-63 (2018).

ПЕРЕДАЧА СИГНАЛОВ PI3K/АКТ/mTOR В МЕДИОБАЗАЛЬНОМ ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

Анфимова П.А.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Актуальность. Гипоталамус является важным регуляторным центром, контролирующим гомеостаз, репродукцию, циркадные ритмы и эндокринную систему. Известна также роль гипоталамуса в регуляции старения. При старении в медиобазальной группе ядер, в частности в аркуатном (ARN), вентромедиальном (VMN) и дорсомедиальном (DMN) ядрах у крыс наблюдаются морфологические, нейрохимические и функциональные изменения нейронов ядер. Сигнальный путь PI3K/АКТ/mTOR играет значительную роль в регуляции различных биологических процессов, таких как клеточный цикл, метаболизм и трансдукция сигнала.

Цель. Целью исследования являлось определение локализации lin28-, АКТ-, PI3K-, mTOR- и RICTOR- иммунореактивных (ИР) нейронов в ARN, VMN и DMN гипоталамуса самцов крыс при старении.

Материалы и методы. Исследование проведено на самцах линии Wistar в возрасте 2 месяца, 6 месяцев, 12 месяцев и 24 месяца после рождения с соблюдением основных биоэтических правил. Исследование проводилось с помощью иммуногистохимического метода и метода вестерн-блоттинга. С целью выявления нейронов, содержащих lin28, mTOR, АКТ, PI3K, RICTOR, применялось двойное мечение антителами. Также была проведена статистическая обработка данных при помощи программы Sigma Plot 12.0.

Результаты. Результаты показали, что компоненты передачи сигналов PI3K-АКТ-mTOR в ARN, VMN и DMN гипоталамуса крыс с возрастом изменяются по-разному. При старении у крыс увеличивается процент lin28-ИР и mTOR-ИР нейронов, и уменьшается доля mTOR-ИР нейронов, колокализирующих RICTOR в ARN. В VMN и DMN наибольший процент mTOR-ИР, АКТ-ИР, PI3K-ИР, RICTOR-ИР нейронов отмечен у крыс в возрасте 6 месяцев. Наибольший процент RICTOR-ИР нейронов отмечен в VMN 6 месячных крыс. У 12-месячных и старых 24-месячных животных процент mTOR-ИР, АКТ-ИР, PI3K-ИР, RICTOR-ИР нейронов VMN и DMN достоверно уменьшался.

Выводы. Таким образом, несмотря на некоторые различия экспрессии сигнальных компонентов PI3K/АКТ/mTOR в отдельных медиобазальных ядрах гипоталамуса при старении экспрессия АКТ повышается, а mTOR – подавляется. Полученные данные подтверждают важность АКТ и mTOR, которые являются ключевыми компонентами передачи сигналов инсулина, часто нарушающихся при старении. Данные также послужат основой для будущих исследований механизмов возрастных заболеваний и их фармакологического лечения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-15-00039).

СТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ГОНАДОТРОПИНА И ТИЕНОПИРИМИДИНОВОГО АЛЛОСТЕРИЧЕСКОГО АГОНИСТА НА ОВАРИАЛЬНЫЙ СТЕРОИДОГЕНЕЗ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМОК КРЫС

Бахтюков А.А.,¹ Деркач К.В.,¹ Фокина Е.А.,¹ Сорокоумов В.Н.,² Баюнова Л.В.,¹ Лебедев И.А.,¹ Шпаков А.О.¹

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, Российская академия наук, Санкт-Петербург, Россия;* ²*Институт химии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Активация гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси лежит в основе регуляции репродуктивных функций, в том числе играет определяющую роль в контроле регуляции фолликулогенеза и индукции овуляции. В клинике для стимуляции овариального стероидогенеза, ответственного за развитие и созревание фолликулов, обычно используют препараты гонадотропинов – фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов, а также хорионического гонадотропина человека (ХГЧ), функционального и структурного гомолога ЛГ. Однако применение гонадотропинов, особенно препаратов с ЛГ-активностью, часто приводит к нежелательным эффектам, что обусловлено гиперактивацией рецепторов и их дальнейшей десенситизацией при использовании фармакологических доз гонадотропинов. Применение гипоталамического рилизинг-фактора гонадолиберина и его гомологов посредством запуска механизмов обратных отрицательных связей может вызвать ингибирование активности ГГГ оси, блокируя, тем самым, овариальный стероидогенез. Вследствие этого ведутся исследования по поиску альтернативных регуляторов ГГГ оси, и здесь значительные надежды связывают с низкомолекулярными аллостерическими агонистами рецептора ЛГ – тиенопиримидиновыми производными, которые интенсивно разрабатываются как нами, так и рядом ведущих зарубежных групп. Ранее нами был создан высокоактивный стимулятор тестикулярного стероидогенеза и сперматогенеза у самцов крыс – соединение ТР03. Целью настоящего исследования было его применение для стимуляции овариального стероидогенеза у половозрелых самок крыс Wistar, находящихся в стадии проэструса, в сравнении с фармакологическим препаратом ХГЧ. Изучали стимулирующие эффекты ТР03 (40 мг/кг, в/б) и ХГЧ (30 МЕ/крысу, п/к) на овариальный стероидогенез у самок крыс, как интактных, так и предварительно обработанных антагонистом гонадолиберина Оргалутраном (100 мкг/кг, п/к, за 3 ч до введения ТР03 или ХГЧ). В крови крыс оценивали уровни эстрадиола, прогестерона и ЛГ, в то время как в яичниках исследовали экспрессию генов, ответственных за стероидогенез (*Star*, *Cyp11a1*, *Hsd3b*, *Cyp17a1*, *Hsd17b*, *Cyp19a1*), и гена рецептора ЛГ/ХГЧ (*Lhcgr*). Через 3 ч после введения ТР03 и ХГЧ в крови животных повышался уровень прогестерона, а в яичниках наблюдали повышение экспрессии генов холестерин-транспортирующего белка StAR, цитохрома P450c17 и ароматазы (цитохрома P450c19). Эти эффекты были показаны как у интактных крыс с нормальным уровнем ЛГ, так и у животных, обработанных Оргалутраном, имеющих пониженный уровень ЛГ. Эффекты ТР03 и ХГЧ были сопоставимыми, но в отличие от ХГЧ, аллостерический агонист не снижал активности гонадной оси, о чем свидетельствует отсутствие его влияния на уровень ЛГ в крови и экспрессию рецепторов ЛГ/ХГЧ в яичниках. Полученные данные свидетельствуют о способности ТР03 эффективно стимулировать овариальный стероидогенез у половозрелых животных и указывают на перспективы разработки на его основе фармакологических препаратов для контролируемой индукции овуляции.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект № 19-75-20122).

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА КОФЕИНА НА АКТИВНОСТЬ АДЕНОЗИНДЕЗАМИНАЗЫ В КОРЕ МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Богданова Н.Г.¹, Судаков С.К.¹, Золотов Н.Н.²

¹ – *Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина
Москва, Россия.*

² – *Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова
Москва, Россия.*

Кофеин, широко употребляемый психостимулятор, повышает психическую и физическую активность человека и животных. Кофеин осуществляет свое действие как антагонист всех типов аденозиновых рецепторов. Можно полагать, что чем выше психостимулирующий эффект кофеина, тем сильнее увеличивается двигательная активность животных, и, возможно, тем выше активность фермента аденозиндезаминазы (АДА).

Изучалось психостимулирующее действие различных доз кофеина на двигательную активность животных и на ферментативную активность АДА в коре мозга крыс самцов разного возраста. Для этого исследовали действие кофеина в дозах 10 и 20 мг/кг на динамику двигательной активности и активность фермента АДА, гидролизующего аденозин в инозин, во фронтальной коре мозга половозрелых двух- и пятимесячных крыс, имеющих различный уровень спонтанной двигательной активности. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями приказа №267 МЗ РФ (19.06.2003) и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, протокол №1 от 03.09.2005 г.).

Было обнаружено, что с 2 до 5 месяцев происходит достоверное снижение общей двигательной активности, сопровождающееся снижением активности АДА. Введение кофеина в дозе 10 мг/кг приводило к стимуляции двигательной активности как у двух-, так и у пятимесячных животных, при этом активность АДА у двухмесячных крыс снижалась, а у пятимесячных – увеличивалась. Введение кофеина в дозе 20 мг/кг не изменяло уровень двигательной активности, однако у пятимесячных животных приводило к резкому увеличению активности АДА. Таким образом, возрастное снижение двигательной активности, возможно, обусловлено снижением активности АДА в мозге крыс. Однако влияние кофеина на двигательную активность не имеет прямой взаимосвязи с активностью АДА в коре мозга.

Исследование было выполнено без привлечения дополнительного финансирования.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОГЛОБИНА В ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ НЕОДНОМОМЕНТНОЙ ПЕРЕВЯЗКИ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ

Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, О.А. Карнюшко, С.М. Зиматкин, Е.И. Вишневская

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

При ишемии головного мозга (ИГМ) развивается цепь патогенетических нарушений в его структурах, среди которых одним из ведущих является энергодефицит, что приводит к развитию клеточной патологии из-за нарушений гомеостаза, активности ферментов, целостности мембран и работы ионных каналов.

Нейроглобин, согласно данным литературы, может выступать в роли нейропротектора

при церебральной ишемии, однако его содержание в нейронах головного мозга при ишемии остается неизученным, поэтому целью нашего исследования было оценить содержание нейроглобина в головном мозге крыс с ишемией головного мозга различной степени тяжести.

Эксперименты выполнены на 60 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований 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 и деонтологии Гродненского медицинского государственного университета (выписка из протокола №1 от 05.01.2022 года).

Тотальную ишемию головного мозга моделировали путем декапитации животных, субтотальную – путем одномоментной перевязки обеих общих сонных артерий. Ступенчатую субтотальную ишемию осуществляли путем перевязки обеих общих сонных артерий с интервалом 7 суток (подгруппа 1), 3-е суток (подгруппа 2) или 1 сутки (подгруппа 3).

По сравнению с группой «контроль», в 1-й подгруппе (промежуток между перевязками 7 суток), происходило увеличение содержания нейроглобина на 13% в теменной коре ($p < 0,05$) и на 14% – в гиппокампе ($p < 0,05$), во 2-й подгруппе (промежуток между перевязками 3 суток) содержание нейроглобина уменьшилось – на 13% в теменной коре ($p < 0,05$) и на 7% – в гиппокампе ($p < 0,05$), а в 3-й подгруппе отмечалось наибольшее снижение содержания нейроглобина – на 31% ($p < 0,05$) и на 33% ($p < 0,05$), соответственно.

В 3-й подгруппе (интервал между перевязками 1 сутки) содержание нейроглобина была меньше, по сравнению с 1-й подгруппой на 40% – в теменной коре ($p < 0,05$) и на 43% – в гиппокампе ($p < 0,05$), а по сравнению со 2-й подгруппой – на 21%, ($p < 0,05$) и на 28%, $p < 0,05$, соответственно.

Таким образом, наиболее выраженные нарушения прооксидантно-оксидантного баланса, а также уменьшение содержания нейроглобина наблюдались при тотальной ишемии головного мозга продолжительностью 1 сутки.

Полученные в статье данные способствуют дальнейшей детализации патогенеза ишемии ГМ, в частности, формирующегося при ней энергодефицита, что послужит фундаментальной базой для дальнейших разработок методов профилактики и коррекции данной патологии.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭНТЕРАЛЬНЫХ МЕТАСИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ НЕЙРОНАЛЬНУЮ NO-СИНТАЗУ

¹Будник А.Ф., ²Маслюков П.М.

¹ – Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова

² – Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия,
trm@ysmu.ru

Нейрохимический состав метасимпатической нервной системы характеризуется значительным разнообразием. Основная часть ганглионарных нейронов метасимпатической системы является холинергической. Наряду с холинергическими нейронами в интрамуральных ганглиях выявлены нейроны, содержащие другие нейротрансмиттеры, в том числе нейропептиды и оксид азота (NO). В постнатальном онтогенезе в интрамуральных узлах происходит изменение нейрохимического состава.

Целью настоящего исследования явилось выявление изменений локализации, процентного состава и морфологических особенностей нейронов тонкой и толстой кишки, содержащих фермент синтеза NO – NO-синтазу (NOS), а также фермент синтеза ацетилхолина – холинацетилтрансферазу (ХАТ) и вазоактивный интестинальный пептид (ВИП) у крысы в

постнатальном онтогенезе. Работа выполнена на крысах-самках линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30, 60 сут, 1 и 2 года после рождения (5 животных в каждой возрастной группе).

Результаты показали, что в межмышечном сплетении наибольший процент nNOS-иммунореактивных (ИР) нейронов обнаружен у новорожденных крысят в толстой ($81\pm 0,9\%$) и тонкой кишке ($48\pm 4,1\%$). В дальнейшем она снижалась в онтогенезе до 60 сут. жизни ($26\pm 0,9\%$ толстая, $29\pm 3,2\%$ тонкая кишка) и не менялась до старения. В подслизистом сплетении nNOS-ИР нейроны также выявлялись у новорожденных ($82\pm 7,0\%$ тонкая, $85\pm 3,2\%$ толстая кишка), при этом их доля значительно снижалась в последующие 20 дней. Кроме того, у 30-дневных и двухмесячных животных было обнаружено очень небольшое количество nNOS-ИР нейронов, но они снова появлялись в большом количестве у старых крыс.

В межмышечном сплетении наибольший процент nNOS+/ХАТ+ нейронов был у 1-, 10-дневных и 2-летних крыс. В подслизистом сплетении наибольшее количество нейронов nNOS колокализовали ХАТ независимо от возраста. В межмышечном сплетении всех крыс многие nNOS-ИР нейроны колокализовали ВИП, причем максимальный процент nNOS+/ВИП+ нейронов обнаружен у 2-летних крыс, минимальный – у новорожденных.

Таким образом, экспрессия nNOS в нейронах кишечника снижена в раннем постнатальном онтогенезе и впоследствии увеличена у старых крыс.

NEUROCHEMICAL FEATURES OF ENTERAL METASYMPATHETIC GANGLIA CONTAINING NEURONAL NO-SYNTASE IN ONTOGENESIS

¹Budnik A.F., ²Masliukov P.M.

¹ – *Kabardino-Balkarian State University named after H.M. Berbekov, Nalchik, Russia*

² – *Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia, mpm@ysmu.ru*

The neurochemical composition of the metasympathetic nervous system is characterized by considerable diversity. The main part of the ganglionic neurons of the metasympathetic system is cholinergic. Along with cholinergic neurons, neurons containing other neurotransmitters, including neuropeptides and nitric oxide (NO), were found in the intramural ganglia. In postnatal ontogenesis, changes in the neurochemical composition occur in the intramural ganglia.

The aim of this study was to identify changes in the localization, percentage composition and morphological features of small and large intestine neurons containing the NO synthesis enzyme NO synthase (NOS), as well as the acetylcholine synthesis enzyme choline acetyltransferase (ChAT) and vasoactive intestinal peptide (VIP) in rats in postnatal ontogenesis. The work was performed on female Wistar rats at the age of 1, 10, 20, 30, 60 days, 1 and 2 years after birth (5 animals in each age group).

The results showed that in the myenteric plexus the highest percentage of nNOS-immunoreactive (IR) neurons was found in newborn rat pups in the large ($81\pm 0,9\%$) and small intestine ($48\pm 4,1\%$). Subsequently, it decreased in ontogenesis up to 60 days of life ($26\pm 0,9\%$ of the large intestine, $29\pm 3,2\%$ of the small intestine) and did not change until aging. In the submucosal plexus, nNOS-IR neurons were also detected in newborns ($82\pm 7,0\%$ small intestine, $85\pm 3,2\%$ large intestine), while their proportion significantly decreased in the next 20 days. In addition, very small numbers of nNOS-IR neurons were found in 30-day-old and 2-month-old animals, but they reappeared in large numbers in old rats.

In the myenteric plexus, the highest percentage of nNOS+/ChAT+ neurons was in 1-, 10-day-old, and 2-year-old rats. In the submucosal plexus, the largest number of nNOS neurons colocalized ChAT regardless of age. In the myenteric plexus of all rats, many nNOS-IR neurons colocalized VIP, with the maximum percentage of nNOS+/VIP+ neurons found in 2-year-old rats, and the minimum percentage in newborns.

Thus, the expression of nNOS in intestinal neurons is reduced in early postnatal ontogeny and subsequently increased in old rats.

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЗГА У ИСПЫТУЕМЫХ С РАЗНЫМИ СВОЙСТВАМИ СУБЪЕКТИВНЫХ ВРЕМЕННЫХ ШКАЛ КОРОТКИХ ИНТЕРВАЛОВ ВРЕМЕНИ

Булгакова Я.В.

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

Введение. В научной литературе широко распространено мнение о том, что ориентировка во времени и оценка временных интервалов различной длительности осуществляются в результате работы сложной системы отражения времени, в основе которой лежат ритмические процессы, протекающие в различных структурах мозга. Эти процессы образуют шкалу нервной активности, на которой отражается длительность временных отрезков. Поскольку специальной сенсорной системы для восприятия времени у человека нет, то параметризация шкал отображения времени и изучение активности мозговых структур, которые участвуют в оценке длительности периодов времени, представляются задачами важными и интересными как с фундаментальной, так и клинической точек зрения. В связи с вышесказанным, целью этого исследования было определить индивидуальные и типологические особенности субъективных шкал оценки коротких интервалов времени испытуемых и оценить особенности фоновой биоэлектрической активности их мозга.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 22 испытуемых мужского пола с полным соблюдением правил и норм биомедицинской этики. В единой системе с регистрацией биоэлектрической активности мозга методом ЭЭГ выполнены тесты шкалирования временных промежутков длительностью 5 секунд по 5 попыток для каждой пробы. Считать при отмерах не разрешалось. Запись ЭЭГ выполнена по системе 10-20, в отведениях (F3, F4), (P3, P4), (T3, T4), (C3, C4) и (O1, O2) на электроэнцефалографе «Неокортекс» с включенным режекторным фильтром (50 Гц), частота дискретизации – 1 кГц, разрядность АЦП – 16 бит с объединёнными референтными электродами на мочках ушей. Используются непараметрические статистические критерии. Достоверность $P < 0,05$.

Результаты. По точности отмеров времени и их погрешности испытуемые разделились на 2 группы. Юноши, которые недоотмерили время, были, в то же время, и менее точны в его оценке, чем те, которые отмечали временные промежутки длительнее объективного времени (переотмерили). У юношей, недоотмеривших время (9 чел.), сумма СПМ в центральных, лобных и затылочных отведениях справа и слева на частоте β -ритма была ниже, чем у тех, кто переотмерил временной промежуток.

Выводы. Испытуемые с различающимися свойствами субъективных временных шкал интервалов времени длительностью 5 секунд различаются фоновой биоэлектрической активностью мозга.

ИЗМЕНЕНИЯ В ТЕМЕННОЙ ДОЛЕ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ПОСЛЕ ДЕСЯТИСУТОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА

Бунькевич А.В.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Цель работы – установить степень активности лизосомальных ферментов и иммунохимический показатель аутофагии количество белка AMBRA1 в нейронах теменной доли коры мозга у крыс после десятисуточного холестаза.

Работа выполнена на базе лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Гродненский государственный медицинский университет». При проведении исследований мы соблюдали принципы гуманного обращения с животными и учитывали рекомендации Рабочей группы Федерации европейского сообщества по науке о лабораторных животных. На выполнение данных исследований получено разрешение этического комитета Гродненского государственного медицинского университета.

Материал для исследования взят от 10 животных (пять опытных и пять контрольных). Моделирование холестаза проводили общепринятыми методами – перевязкой общего желчного протока.

Обработка взятых образцов коры мозга от всех животных проводили параллельно и в одинаковых условиях. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде при +4°C (на ночь), а затем заключали в парафин. Стандартные парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия) и монтировали на предметные стекла. Срезы окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля на выявление в нейронах хроматофильной субстанции, а также общей оценки состояния нервных клеток.

Для выявления кислой фосфатазы – маркерного фермента лизосом (КФ; фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты; КФ 3.1.3.2) срезы предварительно фиксировали в 10% нейтральном формалине и обрабатывали по методу G. Gomori.

Для выявления белка-активатора аутофагии AMBRA1, применяли первичные кроличьи поликлональные антитела фирмы Bioassay Technology Laboratory (Китай, AP00299) в разведении 1:150. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System Elabscience (Китай, E-IR-R213).

Для выявления различий между контрольной и опытной группами использовался U-критерий Манна-Уитни, достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась в программе Statistica 10.0 для Windows.

При гистологическом исследовании в препаратах определяются участки сморщенных нейронов, в некоторых клетках ядра набухшие, ядрышки расположены эксцентрично. Выявляются гиперхромные нейроны с расширенными апикальными отростками. Отмечена вакуолизация цитоплазмы и лизис хроматофильной субстанции. Во всех слоях коры имеются погибшие клетки. Появляется большое количество клеток-теней, не редки явления саттелитоза и нейронофагии.

Активность маркера лизосом фермента кислой фосфатазы после 10 суток холестаза увеличивается во втором слое теменной коры на 7% (0,004), в третьем слое – на 51% (0,002) и в пятом слое – на 29% (0,002). Иммунореактивность белка AMBRA1 после десяти суток холестаза увеличивается во втором слое коры на 18% (0,0001), в третьем слое – на 11% (0,070) и в пятом слое – на 30% (0,0001).

Можно предположить, что усиление иммунореактивности белка-активатора аутофагии AMBRA1 необходимо клеткам для ускорения устранения повреждаемых мембран и органелл в этом стрессовом состоянии. Это коррелирует с данными гистохимического исследования – происходит максимальная активация лизосомального аппарата нервных клеток в эти сроки.

ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА ФОРМИРОВАНИЕ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОГО ЗАМИРАНИЯ У КРЫС

Винарская А.Х., Зюзина А.Б., Балабан П.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Давно известно, что в центральной нервной системе оксид азота (NO) принимает участие во многих разных важных функциях, таких как обучение, формирование памяти, движения, в механизмах боли, стресса. Эта молекула играет ключевую роль в синаптической пластичности, а ее участие в формировании долговременной потенциации неоднократно показано как для пресинапса, так и для постсинапса. Давно показана его важность в процессе обучения, консолидации, реконсолидации памяти. Участие NO в различных формах долговременной синаптической пластичности и долговременной памяти как у беспозвоночных, так и у позвоночных животных давно изучается и привлекает интерес исследователей.

В настоящей работе мы изучали участие NO в процессе формирования и угашения условно-рефлекторной обстановочной памяти страха у крыс. Мы провели эксперименты по выработке условно-рефлекторной обстановочной памяти страха у самцов и самок крыс линии Wistar. Животные обучались в один сеанс. Первый этап обучения состоял из 120-секундного исследовательского периода, что мы принимаем как начальную точку перед обучением и формированием памяти (тест T0). Далее следовали два электрокожных раздражения, которые предъявлялись животному через решетку пола (1 с, 0.6 мА) с 30-секундным межстимульным интервалом. На завершающем этапе обучения животному давали исследовательский период в 30 секунд для оценки и формирования измененного его поведения. Опытным животным внутрибрюшинно вводили неспецифический ингибитор NO-синтазы L-NAME (0.03 г/кг), тогда как контрольные группы получали инъекцию физиологического раствора. Все работы проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

При тестировании через 24 часа (T1), животным предъявляли контекст, в котором его обучали на протяжении 3 минут. Животные всех групп демонстрировали достоверное увеличение замирания при предъявлении условного контекста; различий между группами не наблюдалось. Однако при повторных тестированиях (тестовые сессии T2, T3) с 24 часовым интервалом L-NAME достоверно снижал уровень замирания в группе самок L-NAME (T3), облегчая угасание условно-рефлекторной памяти страха. Среди самцов, с введенной инъекцией L-NAME при обучении, наблюдалась только тенденция к ослаблению памяти. В обеих контрольных группах, как среди самок, так и среди самцов, наблюдался достоверно высокий процент замирания, свидетельствующий о стабильности выработанной памяти. В заключении, введение блокатора NO-синтазы при обучении не повлияло на формирование памяти, однако, полученные данные продемонстрировали участие NO в процессе угашения долговременной условно-рефлекторной памяти страха у крыс.

АКТИВНОСТЬ МОЗГА У КРЫС В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЭМПАТИИ

Гаврилов В.В.

Институт психологии РАН, Москва, Россия

Предпринята попытка выяснения организации активности мозга при эмпатии. Исследования проводились с соблюдением основных биоэтических правил. В экспериментальной клетке с двумя педалями и одной кормушкой крысы научались нажимать

на педали: сначала на ближнюю к кормушке, затем – на дальнюю. Таким образом, обученное животное могло использовать оба способа добывания пищи. Как и предполагали, крысы предпочитали более быстрый вариант, а именно, использовали ближнюю педаль. Затем крысы были поделены на две группы: одни из них продолжали добывать себе пищу, нажимая на педали, а другие, помещенные в гамак в специальном отсеке клетки, получали электрокожное раздражение лап, если конспецифик для получения порции пищи нажимал на ближнюю педаль. Мы предположили, что крысы, если они действительно соперещивают конспецифику, перестроят свое поведение и будут нажимать на дальнюю педаль, нажатия на которую не сопровождаются разрядом тока для конспецифика-«жертвы», или прекратят пищедобывательное поведение.

Суммарную электрическую активность мозга у крыс при реализации ими описанного выше поведения регистрировали электродами, расположенными эпидурально над моторной, зрительной и задней ретроспленальной областями коры мозга. В усредненных от моментов нажатия на педали и от опускания головы в кормушку потенциалах мозга планировали сопоставить амплитуды и латенции пиков компонентов связанных с поведением потенциалов (СПП) при реализации одного и того же поведения у каждой крысы в контроле и при эмпатии, а также у крыс-«эмпатов» и «равнодушных».

В исследовании участвовали 9 взрослых самцов Long Evans. Сначала каждый из них до получения собственного опыта быть жертвой в течение 5 ежедневных 30-минутных сессий добывал себе пищу в присутствии мягко фиксированных в гамаке незнакомых самок. Ни один из самцов ни в одной из сессий не сменил ближнюю педаль на дальнюю, не уменьшил количество нажатий на ближнюю педаль и не отказался от поведения. В поведении со знакомыми конспецификами, при этом независимо от того, была ли уже крыса в положении жертвы или нет, также ни одна из них не проявила эмпатию. Ни в одной из 63 экспериментальных сессий крысы альтруизма (эмпатии) не проявили. В связи с этим, запланированные сопоставления параметры СПП в полной мере провести не удалось. Получены предварительные результаты по сопоставлению параметров СПП у «равнодушных» крыс в одном и том же поведении с электростимуляцией жертвы и в контроле.

Сходство конфигурации медленных потенциалов мозга во всех отведениях, а также в состоянии, когда тестируемая крыса реализует сходное поведение в отсутствие конспецифика или раздражая электрическим током лапы конспецифика, позволяет предположить сходство общемозговой организации поведения в сравниваемых условиях. Вместе с тем имеются достоверные различия на разных этапах поведения в разных областях коры мозга при реализации инструментального пищедобывательного поведения при электрошоке жертвы и без такового, что означает, что нейрональная организация поведения и актуализация элементов опыта в сравниваемых ситуациях разная.

Исследование выполнено в рамках госзадания №0138-2023-0002

ОСОБЕННОСТИ ТОРМОЗНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОДОМЕНА BDNF НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Гайдуков А.Е., Молчанова А.И.

Московский государственный университет, Москва, Россия

Нейротрофический фактор мозга (BDNF) известен как регулятор нейрогенеза и модулятор синаптической передачи в центральных и периферических синапсах. BDNF синтезируется в виде предшественника пронейротрофина (проBDNF), который затем подвергается протеолитическому расщеплению с образованием зрелого BDNF и продомена,

который обладает в ЦНС собственным синаптическим действием, но его регуляторная активность на нервно-мышечную передачу совсем не изучена.

Проводили микроэлектродную регистрацию одноквантовых спонтанных (миниатюрных) и многоквантовых (вызванных стимуляцией моторных аксонов) постсинаптических потенциалов концевой пластинки (МПКП и ПКП, соответственно) в зрелых моторных синапсах диафрагмы мыши с соблюдением основных биоэтических правил.

Продомен BDNF (1 нМ) выступает в качестве функционального антагониста зрелого BDNF и оказывает комплексное ингибирующее действие на квантовый выброс ацетилхолина (АХ) – вызывает снижение амплитуды и частоты МПКП, а также амплитуды и квантового состава ПКП по всему ходу ритмического залпа (50 Гц, 1 с).

Анализ механизма тормозного действия продомена показал, что такой эффект продомена BDNF на синаптическую передачу реализуется за счет активации им рецепторного комплекса р75/сортилин (но не TrkB). Это приводит к запуску сигнального пути с участием Rho-киназы (ROCK). Финальными мишенями такого сигналинга оказались калиевые каналы GIRK и SK. Стимулирование GIRK, помимо возрастания уровня мембранного фосфоинозитол-бисфосфата (PIP₂), требует участия синаптических метаболитных рецепторов, обеспечивающих действие на GIRK βγ-субъединиц G_i-белков. Такими кандидатами на роль коактиватора GIRK в моторных синапсах мыши выступают мускариновые холинорецепторы M₂, пуринорецепторы P2Y₁₃ и аденозиновые рецепторы A₁.

Оказалось, что M₂-рецепторы можно включить в число негативных регуляторов пресинаптических кальциевых каналов L-типа, но эти метаболитные рецепторы функционально не связаны с активацией GIRK. Тормозное влияние на вызванный выброс АХ пуринорецепторов (A₁ и P2Y₁₃) требует функционирования паннексонных каналов, образованных паннексином 1, как дополнительного к везикулярному источнику синаптической АТФ, обеспечивающего необходимый уровень эндогенной активации пуринами ансамбля пресинаптических пуринорецепторов.

В моторных синапсах мышей, нокаутных по гену паннексина1, имеющих нормальные характеристики квантовой секреции АХ, но отсутствие пуринергических регуляторных влияний на нее, продомен BDNF утрачивал свое тормозное действие. Фармакологическое блокирование паннексонных каналов пробенецидом не приводило к изменениям квантовой секреции АХ в моторных синапсах мышей дикого типа, но и в этом случае продомен BDNF перестал тормозить квантовую секрецию АХ. Эти данные говорят о том, что для вовлечения GIRK в регуляцию квантовой секреции АХ в моторных синапсах под действием продомена BDNF необходимо адекватное функционирование компонентов пуринергической модулирующей системы.

С использованием селективных блокаторов A₁-рецепторов аденозина и P2Y₁₃-рецепторов АТФ и ее дериватов (DPCPX и MRS2211) выявили, что для вовлечения GIRK в торможение квантовой секреции АХ в моторных синапсах под влиянием продомена BDNF необходима активность только A₁-рецепторов, но не P2Y₁₃.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 22-25-00111.

МЕМБРАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ ПРИ ВЫРАБОТКЕ УСЛОВНОГО ОБСТАНОВОЧНОГО РЕФЛЕКСА И РЕКОНСОЛИДАЦИИ ЭТОЙ ПАМЯТИ

Гайнутдинов¹ Х.Л., Богодвид^{1,2} Т.Х., Муранова¹ Л.Н., Андрианов¹ В.В., Дерябина¹ И.Б.,
Винарская³ А.Х., Шихаб¹ А.В.

Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия

*¹ – Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Казань, Россия; ² – Поволжская академия физической культуры,
спорта и туризма, Казань, Россия; ³ – Институт высшей нервной деятельности и
нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

Множество экспериментальных данных показывает, что клеточные процессы, связанные с обучением, сопряжены с длительными модификациями эффективности синаптической передачи и изменениями эндогенных свойств нейрона и его мембраны [1]. Имеется достаточное количество исследований клеточных механизмов обучения, которые показывают связь поведенческих результатов обучения с возбудимостью нейрона и его электрическими характеристиками [2,3]. Одной из распространенных теорий формирования памяти заключается в том, что энграмма формируется группой нейронов, которые активны во время обучения, а затем претерпевают биохимические и физические изменения для сохранения информации в стабильном состоянии, и которые позже активируются во время вызова (вспоминания) памяти. Ряд исследований с применением современных методов показали, что в настоящее время имеются доказательства наличия клеток энграммы, активность которых коррелирует с энграммами памяти.

Ранее нами были показаны мембранные корреляты (изменение мембранного и порогового потенциалов премоторных интернейронов) для условных оборонительных рефлексов постукивания по раковине и аверзии к пище, а также при формировании долговременной сенситизации [1,2]. Поэтому возник вопрос – возможны ли подобные изменения при выработке других видов условных рефлексов. Известно, что виноградная улитка способна вырабатывать оборонительный условный рефлекс, обусловленный окружающей средой, т.е. зависимый от обстановки. Было показано, что у виноградной улитки при обучении описанному выше условному оборонительному рефлексу на обстановку возможна реконсолидация долговременной контекстуальной памяти с предъявлением напоминания и последующей блокадой белкового синтеза [4]. Поэтому целью данной работы явилось исследование изменений электрических характеристик премоторных интернейронов виноградной улитки LPa3 и RPa3, а также серотонинсодержащих модуляторных нейронов Pd2 и Pd4 педального ганглия при выработке условного обстановочного рефлекса и реконсолидации памяти на данный рефлекс.

Показано, что выработка условного оборонительного рефлекса на обстановку у улитки сопровождается деполяризационным сдвигом мембранного потенциала и снижением порога генерации потенциалов действия премоторных интернейронов LPa3 и RPa3. Не было обнаружено дальнейших достоверных изменений мембранного потенциала премоторных интернейронов улиток после напоминания (инициации реконсолидации) с последующей инъекцией как блокатора белкового синтеза анизомицина, так и физиологического раствора. Порог генерации потенциалов действия у этих нейронов снижается после обучения и сохраняется далее неизменным после напоминания (инициации реконсолидации) с последующей инъекцией как анизомицина, так и физиологического раствора. Не найдено достоверных изменений мембранного и порогового потенциалов серотонинсодержащих нейронов педального ганглия Pd4 и Pd2 как после обучения, так и после напоминания, как с последующей инъекцией блокатора белкового синтеза анизомицина, так и физиологического раствора.

Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Список литературы:

1. Х.Л. Гайнутдинов и др. Успехи физиологических наук. 42 (1) (2011) 33-52.
2. Kh.L. Gainutdinov et al. Neurosci. Behav. Physiol. 30 (1) (2000) 81-88.
3. R. Mozzachiodi et al. Nature Neurosci. 11 (2008) 1146-1148.
4. P.M. Balaban et al. Sci. Rep. 6 (2016) 36933.

МОДУЛЯЦИЯ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ ПЕРЕДАЧИ АГОНИСТОМ β_2 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Гафурова Ч.Р.^{1,2}, Ценцевичский А.Н.², Петров А.М.^{1,2}

¹Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

²Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

Активация β_2 -адренорецепторов скелетных мышц усиливает анаболические процессы в них, компенсируя трофические нарушения. Следовательно, β_2 -адренорецепторы могут быть специфической мишенью для действия фармакологических препаратов при лечении мышечной атрофии. Одной из основных причин развития мышечной атрофии является нарушение нервно-мышечной передачи. Тем не менее, влияние β_2 -адренорецепторов на нейротрансдукцию остаётся неизученным. К тому же при патологии мышечной системы происходит усиленное освобождение сфингомиелиназ, изменяющих липидный состав мембран, что может иметь эффекты на функционирование β_2 -адренорецепторов.

В данной работе мы исследовали роль β_2 -адренорецепторов в регуляции эффективности синаптической передачи. Флуоресцентные экзо-эндоцитозные FM-красители и электрофизиологический микроэлектродный метод были использованы для выявления эффектов β_2 -адреномиметика на нейротрансдукцию, в частности, на процессы освобождения нейромедиатора и рециклирования синаптических везикул.

Эксперименты были выполнены на лабораторных линейных мышцах, протокол был одобрен комитетом по биоэтике Казанского медицинского университета и соответствует требованиям Директивы ЕС 2010/63/EU.

Активация β_2 -адренорецепторов фенотеролом (1 – 10 мкМ) при высокочастотной стимуляции (20 Гц) усиливала экзоцитоз синаптических везикул двигательных нервных окончаний. Кроме того, замедлялось развитие депрессии секреции нейромедиатора в ходе высокочастотной активности. Следовательно, активация β_2 -адренорецепторов потенцирует мобилизацию синаптических везикул и их участие в нейротрансдукции при ритмической активности.

β_2 -Адренорецепторы локализируются в липидных рафтах, обогащенных сфингомиелином и холестеринем. Разрушение мембранного сфингомиелина под влиянием эндогенных сфингомиелиназ встречается при многих заболеваниях, в том числе воспалительных, метаболических, нейродегенеративных. Применение экзогенной сфингомиелиназы приводило к инверсии эффекта активации β_2 -адренорецепторов: наблюдалось уменьшение экзоцитоза везикул, окрашенных FM-красителями, и усиление депрессии секреции нейромедиатора при стимуляции двигательного нерва с частотой 20 Гц. Следовательно, β_2 -адренорецепторы начинают подавлять нейротрансдукцию после частичного гидролиза сфингомиелина плазматических мембран.

Эффекты β_2 -адренорецепторов могут быть опосредованы как через Gs-, так и Gi-белки, обладающих стимулирующим и ингибирующим действием соответственно. Используя РТХ (коклюшного токсина), блокирующего Gi-белок, мы показали, что после гидролиза

сфингомиелина происходит переключение работы β_2 -адренорецептора со стимулирующего на ингибирующий G-белок.

β_2 -адреномиметики увеличивают надежность нервно-мышечной передачи, следовательно, они могут препятствовать развитию моторной дисфункции. В то же время, гидролиз сфингомиелина мембран приводит к изменению функционирования β_2 -адренорецепторов, что приводит к ухудшению передачи сигнала в нервно-мышечных контактах и может способствовать прогрессированию мышечной атрофии. Данное исследование поднимает вопрос об использовании β_2 -агонистов в условиях, сопровождаемых изменениями мембранных свойств мышц совместно с ингибиторами сфингомиелиназ. Работа поддержана грантом РФФИ №21-14-00044.

ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ СЕНСОМОТОРНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В СОРЕВНОВАТЕЛЬНОМ КОНТЕКСТЕ

Гинзбург-Шик Ю.А.¹, Муртазина Е.П.¹, Ермакова О.И.¹, Меськова Е.С.¹, Берхина А.Г.¹,
Зотова О.М.².

¹ – ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия

² – ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия
ginzburg.shik@gmail.com

Актуальным является изучение нейрофизиологических механизмов социальных взаимодействий, при которых люди должны понимать намерения и действия других, а также координировать поведение для достижения высокой результативности. Сотрудничество и конкуренция являются одними из основных способов социальных взаимодействий.

Цель исследования – сравнительный анализ изменений спектральных характеристик ЭЭГ испытуемых в процессе индивидуальной и соревновательной деятельности в диадах.

Обследовано 104 испытуемых (52 пары), знакомых друг с другом здоровых мужчин, правой, 18 – 23 лет. Испытуемые давали добровольное информированное согласие на участие в обследованиях, одобренных Этическим комитетом МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Регистрация ЭЭГ испытуемых осуществлялась с использованием «Bio Pack Systems» (US) по 8 каналам с каждого, по схеме «10-20» с затылочных, центральных, лобных и височных отведений. Спектральные мощности (СМ) выявлялись на основе быстрого преобразования Фурье, в основных диапазонах частот: θ (4 – 8 Гц), α (8 – 13 Гц), β_1 (13 – 20 Гц), β_2 (20 – 30 Гц) и γ (30 – 45 Гц).

В качестве модели сенсомоторной деятельности использовался тренинг «Столбики» комплекса «БОС-Кинезис» (ООО «Нейротех», Таганрог, РФ) с биологической обратной связью от ЭМГ сигналов мышц сгибателей кисти ведущей руки. Высота столбика динамически изменялась в зависимости от амплитуды регистрируемого ЭМГ сигнала, а цвет зависел от достигаемого диапазона: зеленый – результат «Отлично» при удержании высоты в центральном целевом диапазоне; желтый – результат «Хорошо» при высоте столбика выше или ниже на 10 – 30%; красный – результат «Плохо» при отклонении высоты столбика более чем на 30% от целевого уровня. Проводились 3 сеанса индивидуального обучения (по две минуты), при которых между участниками располагалась перегородка. Далее перегородки убирались, и испытуемые выполняли задание в соревновательном контексте в течение трёх минут на одном мониторе компьютера.

Обнаружено, что при соревновании относительно 3-го индивидуального выполнения БОС-ЭМГ тренинга СМ θ -ритма была достоверно ниже в височных зонах обоих полушарий, в правой фронтальной и левой затылочной областях. СМ α -активности ЭЭГ также была ниже в большом числе отведений, кроме обеих фронтальных зон и правой центральной области. В низкочастотном β_1 -диапазоне ЭЭГ наблюдалась аналогичная картина достоверно меньших

значений СМ в обеих затылочных и височных, а также в правых центральной и фронтальной областях коры. СМ в высокочастотном β_2 - и γ -диапазонах были, наоборот, достоверно выше в соревновательном контексте относительно индивидуальной деятельности: для β_2 – в левой височной, а для γ -ритма – симметрично в обеих центральных и височных областях коры.

Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что соревновательный контекст оказывал существенное влияние на изменение спектральных характеристик ЭЭГ испытуемых при сенсомоторной деятельности. В основном снижались спектральные мощности низкочастотных ритмов: θ - и α -активности, что может свидетельствовать об усилении процессов внимания при соревновательной деятельности, необходимых для оценки собственных и чужих действий. Выявленное увеличение спектральных мощностей в высокочастотных диапазонах β_2 -ритма и γ -осцилляций может отражать большую активацию сенсомоторного регуляторного компонента реализуемого целенаправленного поведения.

ОСОБЕННОСТИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА В МОДЕЛИ ФОТОТРОМБОЗА У МЫШЕЙ СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ВЫЗВАННЫМ ДИАБЕТОМ.

Галков М.Д.¹, Николаенко М.А.², Горбачева Л.Р.^{1,2}

¹ – ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия, ² – МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Сахарный диабет (СД) в настоящее время имеет все признаки заболевания с эпидемиологическим характером распространения: в 2017 году в мире зарегистрировано 425 млн больных диабетом, и по прогнозам к 2045 году этот показатель увеличится на 48% до 629 млн чел. (Атлас диабета IDF, 2017). В структуре летальности у больных СД основное место занимает инфаркт миокарда (55%) и инсульт (29%). Последний относится к сосудистым заболеваниям головного мозга, от которых ежегодно погибают около 5 млн. человек. СД можно рассматривать как один из основных факторов риска развития инсульта, т.к. вызванная им дисфункция эндотелия является причиной сосудистых заболеваний. Решение проблемы эффективной помощи пациентам с ишемическим инсультом на фоне СД возможно лишь на основе четкого понимания всех механизмов данной коморбидной патологии.

В связи с этим, **целью** настоящей работы было изучение влияния стрептозотоцин-вызванного диабета на выраженность повреждений мозговой ткани при фотоиндуцированной ишемии у мышей.

Исследования проведены на мышах C57BL/6J. СД у животных индуцировали введением стрептозотоцина (55мг/кг, в/б, 5-тикратно). Оценка уровня глюкозы в крови у животных из группы «стрептозотоцин-вызванный диабет» (СД) подтвердила развитие диабета у всех животных данной группы. Все эксперименты были одобрены локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол 23/2021 от 13.12.2021). Фототромбоз (ФТ) сенсомоторной зоны коры больших полушарий (ML=2,2 мм, Ruszkowska-Ciastek et al., 2015) приводил к развитию ишемического очага размером $4,5 \pm 1,5$ мм³ у животных без СД. Диабет усугублял вызванное ишемией повреждение мозга, увеличивая размер очага в 2,1 раза по сравнению с группой животных без СД. Анализ барьерной функции ГЭБ показал, что ФТ приводит к значимому повышению проницаемости ГЭБ в поврежденном полушарии по сравнению с контралатеральным через 24 часа после ФТ. У опытной группы содержание Эванса Синего в среднем в 2,8 раз больше в ипсилатеральном полушарии по сравнению с контралатеральным полушарием, в то время как у группы животных без СД данный показатель составил 2,3. Наблюдаемое нарушение барьерной функции ГЭБ может быть связано с развитием воспаления в полушарии, где локализован

ишемический очаг. Так, данные иммуноферментного анализа показали повышение содержания IL-6 в тканях мозга в постишемический период и диабет-зависимое его повышение у мышей. Анализ неврологического статуса в тесте «Решетка» показал, что ишемия приводит более чем к 3-х кратному возрастанию числа моторных ошибок, сделанных контралатеральной поврежденному полушарию конечностью. Сочетанное воздействие СД и ишемии потенцировало развитие моторного дефицита по сравнению с группой животных, подверженных только воздействию ишемии. Количество моторных ошибок в группе с ФТ, осложненным СД, было в 1,4 раза выше, чем в группе только с ФТ.

Таким образом, диабет потенцирует повреждение ткани мозга, вызванное ишемией, усиливая провоспалительный компонент фотоиндуцированного тромбоза, что и обеспечивает увеличение объема очага поражения и нарушает проницаемость ГЭБ у мышей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 22-25-00848.

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ ТИРОЗИНОВЫХ ФОСФАТАЗ РТР1В И ТСРТР В УСЛОВИЯХ IN VITRO И IN VIVO

Деркач К.В.,¹ Захарова И.О.,¹ Сорокоумов В.Н.,² Бахтюков А.А.,¹ Кузнецова В.С.,¹ Шпаков А.О.¹

¹ – *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия;* ² – *Институт химии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

Важнейшими регуляторами инсулиновых и лептиновых сигнальных путей в ЦНС и на периферии являются тирозиновые фосфатазы – протеинфосфотирозинфосфатаза 1В (РТР1В) и Т-клеточная протеинфосфотирозинфосфатаза (ТСРТР), которые дефосфорилируют активированные гормоном рецепторы инсулина и лептина, а также белки-субстраты инсулинового рецептора и нерцепторную тирозинкиназу JAK2, и прерывают, тем самым, передачу гормонального сигнала к внутриклеточным каскадам. Ингибирование этих фосфатаз приводит к усилению инсулиновых и лептиновых сигнальных путей, что представляет значительный интерес в отношении лечения ожирения и метаболического синдрома. При этом нами выдвинута гипотеза о том, что необходимо снизить активность сразу обеих фосфатаз, поскольку они в определенной степени взаимозаменяемы и потому ингибирование только одной фосфатазы может быть малоэффективным. Целью исследования было проверить и обосновать эту гипотезу, для чего в условиях in vitro и in vivo были изучены эффекты трех различных новых ингибиторов фосфатаз РТР1В и ТСРТР – Р104, Р106 и Р107, разработанных нами на основе структуры гетероциклического соединения 4-оксо-1,4-дигидроциннолина. В экспериментах in vitro было установлено, что соединение Р104 является мягким низкоселективным ингибитором обеих фосфатаз (для РТР1В значение IC₅₀ составило 3.37±0.34 μM; для ТСРТР – IC₅₀ составило 4.37±0.52 μM). Соединение Р106 в большей степени ингибировало фосфатазу РТР1В (значение IC₅₀ составило 3.28±0.43 μM), в то время как соединение Р107 было более мощным ингибитором фосфатазы ТСРТР (значение IC₅₀ составило 1.36±0.26 μM). В экспериментах на самцах крыс с диета-индуцированным метаболическим синдромом было показано, что соединение Р104 существенно снижало потребление корма, уменьшало массу тела и жировой ткани, улучшало толерантность к глюкозе, а также повышало чувствительность к инсулину и ослабляло гиперлептинемия. Соединения Р106 и Р107 в этом отношении были менее эффективными, сравнительно слабо влияли на глюкозный гомеостаз и инсулиновую чувствительность и в меньшей степени снижали аппетит. Соединение Р104 существенно повышало экспрессию генов РТР1В и ТСРТР в гипоталамусе и печени, что можно рассматривать как компенсаторный эффект в условиях

ингибирования этих фосфатаз, в то время как эффекты P106 и P107 были выражены слабее. Таким образом, в сравнении с соединениями P106 и P107, которые селективно ингибировали соответственно фосфатазы PTP1B и TCRP, соединение P104, являющееся низкоселективным ингибитором сразу обеих фосфатаз PTP1B и TCRP, в большей степени восстанавливало метаболические и гормональные показатели у крыс с метаболическим синдромом, что подтверждает нашу гипотезу о более высокой эффективности смешанных PTP1B/TCRP-ингибиторов для лечения метаболических синдрома и ожирения.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН № 075-00967-23-00.

ИНДУКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У КРЫС С ПОМОЩЬЮ ОГРАНИЧЕНИЯ ГРУДНОГО ВСКАРМЛИВАНИЯ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ В ПОСТНАТАЛЬНОМ И ВЗРОСЛОМ ВОЗРАСТЕ ИНТРАНАЗАЛЬНЫМ ИНСУЛИНОМ И МЕТФОРМИНОМ

Деркач К.В.,¹ Иванцов А.О.,² Клыс Л.И.¹, Шпаков А.О.¹

¹ – *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, Российская академия наук, Санкт-Петербург, Россия;* ² – *Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия*

Важную роль в развитии метаболического синдрома (МС), характеризующегося инсулиновой резистентностью, нарушенной толерантностью к глюкозе, дислипидемией и эндокринными дисфункциями, играет нарушение грудного вскармливания, причем это может быть обусловлено как дефицитом материнского молока, так и его заменой искусственными смесями. Метаболические и гормональные дисфункции у потомства начинают выявляться уже в зрелом возрасте, но их молекулярные причины и способы коррекции в настоящее время остаются малоизученными. Традиционным подходом для лечения МС является терапия метформином, улучшающим инсулиновую чувствительность и нормализующим углеводный и липидный метаболизм в тканях. Перспективным также является использование интраназально вводимого инсулина (ИИ), поскольку в условиях МС инсулиновые сигнальные пути в мозге нарушены, и введение гормона непосредственно в ЦНС способно их нормализовать и, тем самым, восстановить центральную регуляцию пищевого поведения и энергетического обмена. Поскольку нарушение инсулинового сигналинга в мозге может происходить сразу после нарушения грудного вскармливания, то эффективным может оказаться лечение ИИ не в зрелом возрасте, когда уже имеются явные признаки МС, а на раннем постнатальном этапе развития потомства. Соответственно, целью исследования было изучить эффективность четырехнедельного лечения самцов крыс, лишенных молочного вскармливания на P19 – P21 с помощью ИИ в ранний постнатальный период (дни P28 – P55, 0.25 МЕ/крысу/сутки) и в зрелом возрасте (дни P273 – P301, 0.5 МЕ/крысу/сутки), а также с помощью метформина (120 мг/кг/сутки) и его комбинации с ИИ (0.5 МЕ/крысу/сутки) в зрелом возрасте (10 месяцев). Прерывание молочного вскармливания вызывали введением бромкриптина кормящей самке (10 мг/сутки/крысу).

У взрослых самцов крыс без лечения отмечали увеличение массы тела и жировой ткани, повышенные уровни триглицеридов, общего холестерина и лептина, нарушенную толерантность к глюкозе, уменьшение площади инсулин-продуцирующих панкреатических островков. Четырехнедельное лечение метформином, но не инсулином, в значительной степени восстанавливало эти показатели, нормализовало площадь панкреатических островков, причем комбинированное применение метформина и ИИ, хотя и в небольшой степени, но усиливало восстанавливающие эффекты метформина. Лечение самцов крыс ИИ в раннем возрасте, несмотря на более низкую дозу препарата, оказалось более эффективным,

чем лечение ИИ в зрелом возрасте, что может быть обусловлено своевременным восстановлением инсулиновой системы мозга у крысят с нарушением грудного вскармливания. Полученные данные указывают на развитие ожирения и широкого спектра метаболических и гормональных нарушений у взрослых самцов крыс с моделью МС, вызванной трехдневным прекращением грудного вскармливания, а также на эффективность их коррекции с помощью ИИ в раннем постнатальном периоде и метформинном и его комбинацией с ИИ в зрелом возрасте.

Работа поддержана Минобрнауки России, соглашение № 075-15-2022-296, на создание и развитие научного центра мирового уровня «Павловский центр «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости».

ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ДОНОРА NO НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ НА ОБСТАНОВКУ У УЛИТКИ

Дерябина И.Б.¹, Андрианов В.В.¹, Богодвид Т.Х.^{1,2}, Муранова Л.Н.¹, Хабиб З.С.¹,
Гайнутдинов Х.Л.¹

¹ – Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

² – Поволжская академия физической культуры, спорта и туризма, Казань, Россия
E-mail: ira-kan@yandex.ru

Оксид азота (NO) является одним из наиболее важных сигнальных посредников. У моллюсков NO также играет роль межклеточного мессенджера и сигнальной молекулы в различных отделах нервной системы. В работе исследовалось влияние воздействия экзогенного источника или донора NO нитропруссид натрия на процесс реконсолидации. Все эксперименты проводились на виноградных улитках *Helix lucorum*. У животных вырабатывали обстановочный условный рефлекс (ОУР) по контекстуальной парадигме «на шаре» – в ситуации, при которой раковина животных жестко крепилась к штативу в одном положении, но при этом у них сохранялась свобода передвижения по поверхности шара, плавающего в воде. Обучение заключалось в предъявлении безусловного стимула (электрическое раздражение) при нахождении улитки в этом контексте – на шаре. Обучение производили по протоколу: предъявление 5-ти электрических раздражений в день на протяжении 5 дней прикосновением двух металлических электродов, которые вручную подносили к задней и передней дорзальной части ноги. Время между стимулами составляло 15 – 20 минут. Сила тока стимуляции подбиралась достаточной для запуска оборонительной реакции, связанной с втягиванием головы и передней части тела, она не превышала 2 мА. До начала обучения и последующие дни после обучения проводили тестирование. Для этого измеряли амплитуду втягивания омматофор в ответ на тактильную стимуляцию, которая представляла собой касательное движение волоска кисточки по кожному покрову дорзальной стороны передней части ноги со стандартной скоростью. ОУР считался сформированным, если реакция на шаре значительно превышала таковую на плоской поверхности. На следующий день, после теста, подтверждающего выработку УОР, животных поделили на четыре группы. Животным первой группы инъецировали донор NO нитропруссид натрия за 30 мин до процедуры напоминания с последующей инъекцией циклогексида. Напоминание состояло в помещении животных на шар на 20 – 30 мин., как и при выработке УОР, но без предъявления тактильных и электрических стимулов. Второй группе животных инъецировали донор NO нитропруссид натрия за 30 мин до процедуры напоминания. Третьей группе проводили процедуру напоминания с последующей инъекцией циклогексида. Четвертой, контрольной группе после процедуры напоминания инъецировали физиологический раствор (ФР). Полученные результаты показывают, что инъекция ФР после процедуры напоминания обстановки не приводит к изменению величины оборонительной реакции на тактильное

раздражение при тестировании на шаре, в то же время инъекции циклогексимида после напоминания приводили к полному забыванию сформированной памяти. Введение донора NO нитропрусида натрия за 30 мин до процедуры напоминания с последующей инъекцией циклогексимида, приводит к снижению величины оборонительной реакции на тактильное раздражение при тестировании на шаре с 80,3% до 50,4%. Группа, которой инъецировали донор NO нитропруssid натрия за 30 мин до процедуры напоминания без блокады белкового синтеза, продемонстрировала постепенное снижения величины с 80,2 % до 37,4% в контексте на шаре. Значения тестов на плоскости у всех экспериментальных групп достоверно не отличались. Полученные результаты показывают, что NO является необходимым элементом процесса реконсолидации памяти.

Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

СОМАТОСТАТИН-СОДЕРЖАЩИЕ НЕЙРОНЫ ПРЕВЕРТЕБРАЛЬНЫХ СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Емануйлов А.И., Ширина Е.С., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Полипептид соматостатин (СОМ) относится к числу гормонов и нейропептидов. Выделяют две биологически активные формы СОМ – СОМ-14 и СОМ-28, различающихся соответственно числом входящих в состав молекулы аминокислотных остатков. Установлено, что СОМ содержится в части нейронов автономной нервной системы, в том числе в симпатических узлах. Нейротрансмиттерный состав симпатических нейронов изменяется в онтогенезе. Тем не менее, отсутствуют данные о возрастных изменениях СОМ-ергических нейронах в других симпатических узлах, в частности краниальном шейном (КШГ), а также превертебральных (чревных и краниальном брыжеечном) в постнатальном онтогенезе.

Целью исследования являлось определение процентного содержания СОМ-иммунореактивных (ИР) симпатических нейронов узлов, а также колокализации СОМ с другими нейротрансмиттерами в постнатальном онтогенезе у крысы. Работа выполнена на крысах линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30, 60 суток и 24 месяца с использованием иммуногистохимических методов.

Результаты показали, что СОМ-ИР нейроны не обнаруживались в КШГ, но выявлялись в большом проценте в превертебральных узлах. У новорожденных крыс в ЧГ и КБГ треть нейронов была СОМ-ИР. Процент СОМ-ИР нейронов увеличивался в онтогенезе в обоих узлах в течение первых 30 суток жизни. Мы не наблюдали достоверных различий по процентам СОМ-ИР между КБГ и ЧГ в каждой из возрастных групп ($p > 0,05$). Средняя площадь сечения СОМ-ИР нейронов увеличивалась в ЧГ и КБГ с момента рождения до 60 суток жизни. С 20 суток жизни у крыс в превертебральных симпатических узлах, средняя площадь сечения СОМ-ИР нейронов была достоверно выше в ЧГ в сравнении с КБГ ($p < 0,05$). Во всех возрастных группах, с момента рождения и до старости все СОМ-ИР нейроны колокализовали фермент синтеза катехоламинов ТГ. Также при этом независимо от возраста подавляющее большинство СОМ-ИР нейронов содержали NPY. Не было обнаружено достоверных различий между процентами СОМ-ИР нейронов, колокализирующих NPY в различных возрастных группах.

Таким образом, в превертебральных симпатических узлах крысы в раннем постнатальном онтогенезе наблюдается возрастание процента нейронов, содержащих СОМ. Это важно для становления симпатической иннервации желудочно-кишечного тракта, где основной медиатор симпатических нейронов – норадреналин, а также нейротрансмиттер соматостатин оказывают тормозное влияние на моторику и секрецию органов пищеварения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-25-00141).

ВЕГЕТАТИВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА, ЭЛЕКТРОДЕРМАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И КОНЦЕНТРАЦИЯ КОРТИЗОЛА У ПОДРОСТКОВ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Ермакова И.В., Догадкина С.Б.

*ФГБНУ «Институт возрастной физиологии Российской академии образования»,
Россия, Москва*

Эмоциональный интеллект – способность понимать свои и чужие эмоции, правильно их выражать, контролировать и управлять ими. От уровня развития эмоционального интеллекта зависит насколько успешно человек преодолевает эмоциональное напряжение и стресс, адаптируется к меняющимся условиям среды и социализируется.

Эмоции являются психофизиологическим феноменом. Об эмоциональной реакции судят как по самоотчету индивидуума, так и по изменениям вегетативных показателей: вариабельности сердечного ритма и электродермальной активности. Колебания уровня кортизола оказывают влияние на эмоциональные процессы у людей.

С целью оценки вегетативной регуляции сердечного ритма, электродермальной активности и концентрации кортизола у подростков с разным уровнем эмоционального интеллекта было проведено анкетирование обучающихся в 7 классе (n=30) по методике «Опросник эмоционального интеллекта» Д.В. Люсина и Н. Холла, произведена регистрация ЭКГ и анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР), определена электродермальная активность и концентрация слюнного кортизола в состоянии относительного покоя.

Основополагающим принципом исследования было отсутствие риска для здоровья детей и подростков, соблюдение гуманных и этических норм.

По результатам анкетирования выявлено, что 27% подростков имеют высокий уровень *общего эмоционального интеллекта* (ОЭИ), 36% – средний и 37% – низкий уровень. Подростки понимают свои собственные эмоции (60% – средний и высокий уровень), хорошо умеют управлять ими (43% – высокий уровень), но не могут подавлять экспрессию (53% – низкий уровень). Высокий уровень *внутриличностного эмоционального интеллекта* (ВЭИ) наблюдается только у 27% подростков. Примерно такая же картина наблюдается и по *межличностному эмоциональному интеллекту* (МЭИ): 40% подростков очень хорошо понимают чужие эмоции, но 53% не умеют управлять ими. Высокий уровень МЭИ обнаружен у 33% подростков. Для 17% подростков характерен высокий уровень эмпатии, т.е. способности к сопереживанию и восприятию эмоций других людей, для 37% – низкий уровень.

Анализ вариабельности сердечного ритма в состоянии относительного покоя выявил различия у подростков с разным уровнем эмоционального интеллекта. Установлено, что у подростков с высоким уровнем эмоционального интеллекта в состоянии покоя отмечается высокий уровень общей вариабельности сердечного ритма (TP, RRNN, SDNN), высокая парасимпатическая активность (HF) и низкий уровень симпатической активности (LF, IH). т.е. превалируют парасимпатические влияния на сердечный ритм. При низком уровне эмоционального интеллекта отмечаются более высокие показатели симпатической активности сердечного ритма.

Медиана суммарной электродермальной активности (СА) у подростков с низким уровнем эмпатии статистически значимо выше, чем у лиц с высоким уровнем (22,45 сНп/мин против 5,78 сНп/мин; p=0,047).

Медиана содержания кортизола в слюне у подростков с низким уровнем ОЭИ выше, чем с высоким уровнем (19,3 нг/мл против 12,54 нг/мл; $p=0,023$).

Таким образом, подростки с низким уровнем эмоционального интеллекта характеризуются повышенным симпатическим влиянием на сердечный ритм, у них выше электродермальная активность и концентрация кортизола по сравнению со сверстниками, у которых выявлен средний и высокий уровень эмоционального интеллекта.

ВЛИЯНИЕ СОРЕВНОВАТЕЛЬНОГО КОНТЕКСТА НА УСПЕШНОСТЬ ВЫПОЛНЕНИЯ КОГНИТИВНОГО ТЕСТА ИСПЫТУЕМЫМИ В ДИАДАХ

Ермакова О.И.¹, Муртазина Е.П.¹, Берхина А.Г.¹, Меськова Е.С.¹,
Гинзбург-Шик Ю.А.¹, Зотова О.М.²

¹ – ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия

² – ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия

Изучение влияния различных социальных контекстов на результативность выполнения интеллектуальной работы является одной из актуальных проблем современной психофизиологии. Известно, что достижение человеком результатов деятельности в социуме может зависеть от характера взаимодействий между людьми. При коллективной работе основными социальными факторами являются конкурентность или кооперативность среды. Исходя из этого, цель исследования – провести сравнительный анализ показателей успешности когнитивной деятельности испытуемых между индивидуальным и соревновательным контекстами и между группами испытуемых с различной результативностью. Испытуемые: 104 мужчины, 17 – 28 лет, правши, условно здоровые. Все испытуемые давали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено этической комиссией МГМСУ им. А.И. Евдокимова. Пары участников, знакомых друг с другом, выполняли когнитивный тест «Установление закономерностей» в индивидуальном и соревновательном контекстах. Задание состояло в том, чтобы выявить закономерности сочетания цифр в группе (длина «слова» равна 6, среди 5 групп в строке), соответствующие буквенному коду в «слове» из 6 букв латинского алфавита. Протокол исследования включал выполнение тренировочной сессии, состоящей из 5 строк, без ограничения по времени выполнения теста на 2-х отдельных компьютерах. Затем испытуемые одновременно проходили индивидуальное контрольное тестирование с ограничением по времени (3 минуты) по матрице из 12 строк. На этих этапах испытуемые сидели за рядом стоящими столами, разделенными перегородками на уровне мониторов и стульев. После этого перегородки удалялись. Испытуемые проходили этап выявления закономерностей в соревновательном контексте с ограничением по времени (3 минуты) по матрице из 12 строк. Перед этим экспериментатор акцентировал внимание участников на соревновательном характере этого испытания и необходимости быстрее и точнее выполнить задание. По всем этапам деятельности оценивались следующие показатели результативности: коэффициент успешности (КУ), рассчитанный по формуле, содержащей число просмотренных и отмеченных цифровых групп, количество пропусков и допущенных ошибок. Также анализировались число верных ответов и среднее время, затраченное на просмотр одной цифровой группы. В результате проведенного исследования показано, что в соревновательном контексте по сравнению с индивидуальным достоверно возрастал КУ выполнения теста по всем испытуемым в целом. КУ рос за счет сокращения времени, затрачиваемого на анализ отдельных цифровых групп, и увеличения количества просмотренных. При этом уменьшалось число пропусков, увеличивалось количество верно и неверно помеченных групп. В индивидуальном контексте деятельности испытуемые по показателю КУ разделились на группы высоко-, средне- и низкорезультативных. При соревновании менялось соотношение

количества испытуемых в этих группах: росла доля высокорезультативных, снижались доли средне- и низкорезультативных. Количество правильно выявленных закономерностей достоверно увеличивалось, особенно у низкорезультативных испытуемых. Количество неверно помеченных групп достоверно различалось между всеми тремя группами в целом, при этом особенно выраженное снижение наблюдалось при соревновании в группе высокорезультативных испытуемых. Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о том, что когнитивная успешность улучшалась в конкурентном контексте и степень изменения ее показателей зависела от исходных индивидуально-типологических характеристик результативности интеллектуальной деятельности испытуемых.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА 90-СУТОЧНОГО ПОТОМСТВА КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ ЭТАНОЛ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Заерко А.В., Федина Е.М., Зиматкин С.М., Лопушек Я.В.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Фетальный алкогольный синдром объединяет различные отклонения в психофизическом развитии ребенка, как по сочетанию, так и по степени выраженности, которые впервые проявляются при рождении и не исчезают с возрастом. Их причиной является употребление алкоголя женщиной до и во время беременности. В основе этиологии и патогенеза фетального алкогольного синдрома лежит токсическое действие алкоголя и продуктов его распада на плод. Так, алкоголь негативно влияет на основные нейромедиаторные системы головного мозга, в том числе на гистаминергическую систему. В то же время пути метаболизма гистамина и этанола в головном мозге имеют общий фермент – альдегиддегидрогеназу, участвующую в расщеплении ацетальдегида. Давно известна высокая чувствительность развивающегося мозга к токсическому действию алкоголя. Однако исследование влияния отдаленных последствий антенатальной алкоголизации на гистаминергические нейроны в постнатальном онтогенезе не проводилось.

Цель исследования – оценка влияния алкоголя на структуру гистаминергических нейронов ядра E2 заднего отдела гипоталамуса 90-суточного потомства крыс, потреблявших алкоголь в период беременности.

Исследование проведено на 12 самках беспородных белых крыс и их потомстве. Научная работа выполнена в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. Самки опытной группы на протяжении беременности потребляли 15% раствор этанола в качестве единственного источника питья, животным контрольной группы предлагалась вода. Декапитацию потомства (15 животных) проводили на 90-е сутки после рождения. После декапитации извлекали головной мозг, выделяли из него гипоталамус, который замораживали в парах жидкого азота и хранили в нем. С помощью криостата изготавливали серийные фронтальные срезы заднего гипоталамуса толщиной 12 мкм. Полученные срезы окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля. Количественную оценку размеров и формы гистаминергических нейронов проводили измерением минимального и максимального диаметров, периметра, площади, объема нейронов, форм-фактора и фактора элонгации. При сравнении групп по одному признаку использовали критерий Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5%.

В ходе изучения структурных изменений перикарионов гистаминергических нейронов гипоталамуса 90-суточного потомства крыс, потреблявших алкоголь в период беременности,

при сравнении с контрольной группой животных обнаружены различия по следующим морфологическим параметрам: максимальный диаметр, периметр, площадь и объем перикарионов гистаминергических нейронов меньше на 20,58%, 16,93%, 26,38% и 36,15% соответственно. Кроме того, в опытной группе животных наблюдается увеличение фактора (на 7,59%) и уменьшение фактора элонгации (на 15,2%). Это свидетельствует о том, что тела гистаминергических нейронов у крыс, перенесших антенатальную алкоголизацию, имеют более округлую форму.

Таким образом, у крыс опытной группы, перенесших пренатальную алкоголизацию, гистаминергические нейроны ядра E2 характеризуются меньшими размерами и более округлой формой перикарионов, в сравнении с контрольной группой животных. Это свидетельствует о наличии долгосрочных нарушений структуры исследуемых клеток и указывает на высокую чувствительность развивающихся гистаминергических нейронов мозга к алкоголю.

ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ

Зиматкин С.М.

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

В настоящей работе обобщены наши данные о постнатальном развитии структуры и метаболизма разных типов нейронов головного мозга крысы. Было интересно проследить общие закономерности и особенности микроскопических изменений этих нейронов в постнатальном онтогенезе.

Материал получен от потомства беспородных белых крыс на 2, 7 – 10, 15 – 20, 45, и 90 сутки после рождения. Исследования проводились с соблюдением всех основных биоэтических правил. В качестве маркерных типов нейронов головного мозга были выбраны внутренние пирамидные нейроны новой (лобной и теменной) коры мозга (холинергические), клетки Пуркинью (ГАМК-ергические) и зернистые нейроны (глутаматергические) коры мозжечка, нейроны ядер мозжечка (преимущественно глутамат- и глицинергические), а также гистаминергические нейроны гипоталамуса. Для светооптического микроскопического исследования образцы соответствующих отделов мозга фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде и заключали в парафин (для гистологии и иммуногистохимии), фиксировали в 1% четырёхоксида осмия, заключали в эпоксидную смолу и готовили ультратонкие срезы (для электронной микроскопии), замораживали в жидком азоте и готовили криостатные срезы (для гистохимии ферментов). Изучение гистологических и гистохимических препаратов, их микрофотографирование и морфометрию проводили с помощью 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). Ультраструктуру нейронов изучали с помощью электронного микроскопа JEM-1011 (JEOL, Япония) и фотографировали цифровой камерой Olympus Mega View III. Ультраструктурную морфометрию проводили с помощью программы для обработки изображения iTEV 1011 (JEOL, Япония). Для анализа цифровых данных использовали методы непараметрической статистики.

Результаты. В постнатальном онтогенезе происходит появление, рост и исчезновение (к 20 дню) наружного зернистого слоя коры мозжечка, пролиферация в нём предшественников зернистых нейронов (маркер Ki-67), их миграция во внутренний зернистый слой (маркер даблкортин), их дифференцировка там (рост экспрессии NeuN). Показан закономерный рост перикарионов, ядер и ядрышек ганглиозных нейронов мозга, перемещение к центру ядра и уменьшение числа ядрышек. Показано формирование гранулярной эндоплазматической сети развивающихся нейронов с увеличением длины их цистерн и числа связанных рибосом,

формирование комплекса Гольджи, свидетельствующие о формировании их синтетического аппарата. В цитоплазме увеличивается число митохондрий и активность в них дегидрогеназ и содержания АТФ-синтазы, что свидетельствует о развитии энергетического аппарата нейронов. Выявлено закономерное увеличение в цитоплазме растущих нейронов числа и размеров лизосом и активности их маркерного фермента кислой фосфатазы, свидетельствующих о формировании аппарата переваривания и защиты (для аутофагии). Происходит увеличение в нейронах экспрессии маркеров их специфического медиаторного метаболизма (глутаматдекарбоксилазы в ГАМК-ергических нейронах и МАОБ в гистаминергических нейронах. В нейропиле происходит увеличение содержания маркера синаптических пузырьков, синаптофизина, что отражает синаптогенез в разных отделах мозга.

Таким образом, использованные микроскопические методы позволяют визуализировать и документировать динамику формирования структур и молекул, обеспечивающих основные функции и процессы в развивающихся нейронах мозга. При этом особенно эффективным является комплексное гистологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое и электронномикроскопическое исследование.

АЛЬФА-АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СЕРДЦА

Зиятдинова Н.И., Купцова А.М., Нур Мансур, Галиева А.М., Зефиров Т.Л.

Казанский (Приволжский федеральный университет), Казань, Россия

Адренергические рецепторы (АР) представляют собой гликопротеины клеточной мембраны, которые распознают и избирательно связывают катехоламины, высвобождаемые из окончаний симпатических нервов и мозгового вещества надпочечников. Всего существует три семейства и девять подтипов АР (α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} , β_1 , β_2 и β_3), которые демонстрируют сходную аффинность связывания, но вызывают разные физиологические эффекты для одних и тех же эндогенных катехоламинов. Избирательность передачи сигналов достигается за счет связывания с различными G-белками и эффекторными системами как во времени, так и в пространстве.

В 1948 году Раймонд Ахлакиест ввел понятие различных типов адренергических рецепторов и присвоил им подтипы α и β . Первоначально существовала классификация адренорецепторов на α и β подтипы. Затем на основе фармакологических данных α_1 -АР дополнительно подразделили α_{1A} - и α_{1B} -АР. Текущие данные о связывании радиолиганда АР в сердце предполагают доминирование β -АР, включающее 90% β -АР, присутствующих в соотношении 8:2 β_1 : β_2 , и 10% α_1 -АР, присутствующих в соотношении 6:4 α_{1A} : α_{1B} . Первоначально α_1 -АР были идентифицированы как постсинаптические α -адренорецепторы на основании их уникальных фармакологических характеристик. АР регулируют как сократительную способность, так и рост миокарда.

В то время как β -АР и α_1 -АР непосредственно участвуют в регуляции сократительной активности миокарда, традиционно считалось, что α_2 -АР играют ограниченную роль в сердце. В первую очередь было обнаружено, что агонисты α_2 -АР действуют в коронарных артериях и сердечных нервах, но не в самом миокарде. Фактически экспрессия поли(А)+РНК α_{2A} , α_{2B} и α_{2C} в сердце крыс была незначительной по сравнению с уровнем этих рецепторов в нейронах, тканях почек, печени или аорты. Однако более поздние исследования с использованием вестерн-блоттинга выявили экспрессию белков всех трех типов α_2 -рецепторов в сердце крыс. Идентифицированная экспрессия изоформ α_2 -АР в клетках миокарда безусловно заслуживает внимания и указывает на потенциальный вклад этих рецепторов в регуляцию миокарда.

Вопреки парадигме, согласно которой α_2 -АР оказывают минимальное прямое воздействие на кардиомиоциты, недавние исследования с изолированными желудочковыми кардиомиоцитами крысы выявили их ранее не признанный кардиопротекторный потенциал.

Кроме того, было определено, что α_2 -АР экспрессируются как в процессе эмбрионального развития сердца, так и во взрослом возрасте у мышей, а также в кардиомиоцитах, дифференцированных *in vitro* из эмбриональных стволовых клеток.

В целом следует отметить, что активация α_1 - и α_2 -АР может приводить к разнонаправленным изменениям как силы сокращений в препаратах сердца, так и их частоты, в зависимости от видовых, тканевых и возрастных особенностей животных, а также от фармакологических свойств используемых препаратов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-15-00121, <https://rscf.ru/project/21-15-00121/>.

ВЛИЯНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ КОГНИТИВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЧЕЛОВЕКА И СПЕКТРАЛЬНО ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭЭГ.

Каратыгин Н.А., Коробейникова И.И., Венерина Я.А.

*ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва, Россия*

В целом ряде исследований показана возможность влияния на эндогенные ритмические процессы мозга путем ритмически организованной стимуляции. При этом были продемонстрированы положительные эффекты оптической (а также транскраниальной, цветовой) стимуляции с частотой 10 Гц на различные аспекты когнитивной деятельности человека. Подобные эффекты выражались в значительном снижении индекса напряжения регуляторных систем, повышении активности когнитивных функций, увеличении эффективности переработки информации, улучшении памяти у лиц пожилого возраста.

Однако в литературе приводятся данные, свидетельствующие, что для некоторых видов деятельности, связанных, например, со временем распознавания зрительных стимулов, стимуляция с частотой 10 Гц и последующие эффекты навязывания ритма в структурах зрительной системы могут иметь негативное влияние на успешность выполнения задания. Например, мерцание в α -диапазоне (10 Гц) ухудшает обработку стимула в задаче избирательного внимания, когда частота мерцания стимула соответствует индивидуальной частоте α -пика.

Целью исследования явился анализ эффекта влияния оптической стимуляции частотой 10 Гц на пространственные характеристики α -диапазона ЭЭГ испытуемых с различной результативностью когнитивной деятельности.

Исследование одобрено этической комиссией МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (Протокол № 02-20 от 05.02.2020 г.). Исследовали влияние оптической стимуляции (10 Гц) на результативность мнестической деятельности в тесте «n-back» у здоровых испытуемых (n=33). На экране монитора предъявлялся ряд визуальных образов (геометрические фигуры трех форм и цветов). Испытуемые должны были определить и указать с помощью мыши, встречался ли предъявляемый в данный момент образ две позиции назад. Тест выполнялся в обычных условиях и в условиях оптической стимуляции (мерцание экрана с частотой 10 Гц). На всех этапах обследования регистрировалась ЭЭГ. Рассчитывали абсолютные значения спектральной мощности частоты 10 Гц (мкВ^2) α -диапазона. По результату теста, выполняемого без оптической стимуляции, выделены группы с высоким (1-я) и низким (2-я) результатом. В исходном состоянии спектральная мощность 10 Гц была значимо выше у испытуемых 1-й группы. Выполнение теста на фоне мерцания экрана приводило к снижению результата испытуемых 1-й и увеличению результата испытуемых 2-й группы. Выполнение теста на фоне мерцаний относительно его выполнения в обычных

условиях сопровождалось увеличением спектральной мощности 10 Гц только у испытуемых 2-й группы. Установлено, что оптическая стимуляция вызывает рост межполушарной интеграции нейронных ансамблей ряда областей коры на частотах высокого поддиапазона α -ритма. Повышение межполушарной кооперации в большей степени имело место у испытуемых, которые увеличивали результативность тестовой деятельности на фоне оптической стимуляции. Полученные данные могут служить основанием для разработки практических рекомендаций для улучшения мнестических функций человека с учетом индивидуальных характеристик его исходной ЭЭГ. Предполагается, что рост межполушарной интеграции, вызванный ритмически организованной оптической стимуляцией с частотой 10 Гц, является одним из факторов, способствующих увеличению результативности выполнения когнитивных задач подобного рода.

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТА NMDАРЕЦЕПТОРОВ ПРЕПАРАТА NMDАНА ВЫРАБОТКУ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА АВЕРЗИИ К ПИЩЕ

Кашапова А.Ф., Муранова Л.Н.

Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия

Известно, что клеточные и молекулярные механизмы процессов обучения и памяти, являются важным звеном для углубления наших представлений о процессах обучения и памяти [1]. Глутамат вызывает особое внимание среди нейромедиаторных систем, входящих в эти процессы. Было обнаружено, что рецепторы глутамата NMDA участвуют в механизмах консолидации и реконсолидации памяти [2,3]. Для исследования влияния антагониста NMDA рецепторов препарата NMDA на реконсолидацию аверзии к пище, был проведен эксперимент на улитках вида *Helix lucorum*. В работе участвовали три группы улиток. Первой группе во время обучения условному рефлексу (УР) вводилась инъекция препарата N-метил-D-аспартата (NMDA), второй группе вводилась инъекция физиологического раствора (ФР), третья группа была контрольной группой (интактные улитки). Для обучения животных использовалась установка, представляющая собой шар, плавающий в воде. Условным стимулом служил огурец, безусловным стимулом (БС) являлась электрическая стимуляция. Использовались два электрода. Один из них прикладывался к телу улитки, а другой был вставлен в кусок огурца. Предъявление проводилось раз в 5 минут. Если животное не притрагивалось к пище в течение 120 сек, это считалось отказом. При предъявлениях регистрировались принятие и отказ от пищи. На второй обстановке, на плоскости, улиткам также предъявлялся огурец, но уже без использования БС. Дифференцирующим стимулом служила морковь. Тестирование проводилось каждый день перед обучением. Все экспериментальные процедуры были выполнены с соблюдением правил и норм этического комитета Казанского Федерального Университета. Для полного обучения УР аверзии первой группе животных потребовалось в среднем 63 сочетания условного и безусловного стимула. Вторая группа обучилась через 60 стимулов. Латентность захвата условного стимула в обеих группах была значительно больше, чем у дифференцирующего стимула. Полученные результаты показали, что обе группы животных обучились УР аверзии с относительно одинаковой скоростью, следовательно, инъекция препарата NMDA не влияет на процесс обучения.

Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Список литературы:

1. McGaugh J.L. Consolidating memory. *Annu. Rev // Psychol.* – 2015. 66: P. 1-24.

2. Nikitin, V.P. NMDA or 5-HT receptor antagonists impair memory reconsolidation and induce various types of amnesia // Behavioural Brain Res. – 2018. V.345. P. 72-82.
3. Cui, Z. Requirement of NMDA receptor reactivation for consolidation and storage of nondeclarative taste memory revealed by inducible NR1 knockout // Eur J Neurosci. – 2005. V.22. N.3. P.755-763.

МАРКЕР МАКРОФАГОВ ED1(CD68) В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ

Кирик О.В., Коржевский Д.Э.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Долгое время считалось, что единственным элементом иммунной системы головного мозга являются микроглиоциты. Микроглиоциты – резидентные макрофаги нервной ткани, регулирующие широкий спектр процессов в головном мозге: от поддержания гомеостаза до развития нейродегенеративных заболеваний. Было показано, что популяция этих клеток формируется в раннем эмбриогенезе (до закрытия гематоэнцефалического барьера) из клеток мезодермы желточного мешка. Микроглиоциты не являются структурно стабильными клеточными элементами, их отростки всё время находятся в движении, контролируя прилежащую к ним микротерриторию. В то время как на критическую роль микроглии в индукции нейровоспаления обращено пристальное внимание исследователей, о функциональном значении типичных макрофагов мозга информация фрагментарна. Действительно, макрофаги, ассоциированные с барьерами, можно обнаружить в периваскулярном пространстве, в мозговых оболочках и в сосудистом сплетении, где, помимо стромальных макрофагов, на поверхности эпителия присутствует еще одна популяция макрофагов – эпиплексусные клетки или клетки Колмера. Расположенные в периваскулярном пространстве и мозговых оболочках тканевые макрофаги дифференцируются из моноцитов крови, в то время как происхождение макрофагов сосудистого сплетения является предметом научной дискуссии. Чтобы выделить из общего пула иммунных клеток макрофаги моноцитарного происхождения, нами был использован лизосомальный маркер ED1 (CD68), который экспрессируется в тканевых макрофагах.

Цель работы состояла в определении структуры и локализации в головном мозге крысы клеток, которые экспрессируют маркер CD68.

Работа была выполнена на образцах головного мозга половозрелых крыс-самцов линий Wistar (n=5), Wistar-Kyoto(n=5) и SHR (n=5). Манипуляции с животными проводили с соблюдением всех норм биомедицинской этики. Головной мозг был фиксирован в цинк-этанол-формальдегиде. Для иммуногистохимического исследования микроглии и макрофагов были поставлены реакции на последовательных срезах с использованием кроличьих поликлональных антител к Iba1 (Biocare medical; США) и мышинных моноклональных антител к CD68, клон ED1 (Abscam; Великобритания). Для оценки колокализации использованных в работе маркеров была поставлена двойная иммунофлуоресцентная реакция.

При анализе результатов была отмечена более низкая плотность распределения CD68⁺ клеток по сравнению с Iba-1⁺ клетками во всех изученных случаях. В периваскулярных пространствах мозга и сосудистого сплетения CD68⁺-клетки имели овальную или уплощенную форму. Продукт иммуногистохимической реакции распределялся равномерно по цитоплазме в виде мелких сливающихся гранул. У крыс линий WKY и SHR наблюдались признаки активации Iba-1⁺-клеток Колмера, а в полости желудочка появлялись супраэпендимные CD68⁺ и Iba-1⁺ -клетки округлой формы. Двойная иммунофлуоресцентная реакция выявляла единичные CD68⁺/Iba-1⁺-клетки на поверхности эпителия сосудистого сплетения у крыс линий WKY и SHR.

Полученные данные указывают на то, что клетки отростчатой микроглии у крыс содержат Iba-1, но не экспрессируют ED1 (CD68). ED1 экспрессируется в макрофагах периваскулярных пространств и мягкой мозговой оболочки. Появление CD68⁺-клеток в полости мозговых желудочков может быть связано с повреждением гематоликворного барьера у крыс SHR и WKY.

ВЛИЯНИЕ С-ВОЛОКОН НА СОКРАЩЕНИЯ МЫШЦЫ ТРАХЕИ И БРОНХОВ

Кирилина В. М., Смирнова О. Е., Блажевич Л. Е.

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

Введение. На данный момент физиологическое значение С-волокон в сокращении гладкой мускулатуры трахеи и бронхов крысы недостаточно хорошо изучено. Не выяснены физиологические механизмы работы С-волокон совместно с метасимпатическим ганглием и без него.

Методы исследования. Всего было исследовано 25 крыс с массой тела 200 – 270 г. Все эксперименты были проведены в соответствии с правилами проведения лабораторных исследований [1]. Для получения образцов респираторного тракта животных была использована методика декапитации с предварительной анестезией, которую осуществляли внутримышечными инъекциями золетила (Virbac S.A., Франция) в дозировке 20 мг/кг [2]. Готовились препараты трахей и бронхов, размеры которых были 0,4 – 0,6 см. в длину и 0,5 – 0,7 см. в ширину. Препараты респираторного тракта помещались в камеры физиологической установки, где они промывались раствором Кребса-Хензелейта (37⁰С, рН=6,9 – 7,1). В опытах применялась электрическая стимуляция постганглионарных нервных волокон (частота 30 стим/с, длительность – 0,5 мсек, амплитуда 20 В, продолжительность стимуляции 10 с). Сокращения мышцы на фоне физиологического раствора Кребса-Хензелейта принимались за 100%. Возбуждение С-волокон проводилось при помощи капсаицина (1 мкг/мл в виде аппликации объемом 0,2 мл). Блокада холинергических рецепторов осуществлялась атропином (5 мкг/мл в виде перфузии).

Результаты исследования. Возбуждение С-волокон малыми дозами капсаицина на фоне физиологического раствора приводило к статистически значимому увеличению сокращений мышцы трахеи и бронхов (P<0,05). Сократительные ответы трахеи возрастали до 119,5±1,9 %, бронхов – до 126,7±2,2 % (различия между ответами трахеи и бронхов были статистически значимы; P<0,05). Блокада холинорецепторов атропином вызывала резкое снижение сокращений мышцы трахеи до 15,2±2,5 %, бронхов – до 17,5±3,1 % (P<0,05). При возбуждении С-волокон капсаицином на фоне заблокированных холинергических рецепторов ответы мышцы снова статистически значимо увеличивались и составляли 26,4±2,8 % для трахеи и 35,4±2,3 % для бронхов (P<0,05).

Обсуждение результатов исследования. Атропин блокировал холинергические рецепторы, тем самым устраняя влияние интрамурального метасимпатического ганглия в сокращении мышцы. На фоне атропина наблюдалось резкое снижение ответов мышцы. Активация С-волокон на фоне устранения холинергического пути атропином приводила к увеличению сократительных ответов трахеи на 73,6 % и бронхов на 102,2 %. Соответственно, можно предположить, что в нижних дыхательных путях крысы С-волокна оказывают влияние на гладкую мышцу через два пути. Первый путь связан с интрамуральным метасимпатическим ганглием, а второй путь – с гуморальными механизмами. Под гуморальными механизмами понимается выделение С-волокнами возбуждающих тахикининов (нейрокинин А) [3]. Констрикторные эффекты С-волокон, связанные с интрамуральными ганглиями, более выражены по сравнению с эффектами, связанными с гуморальными механизмами.

Список литературы

- 1.ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур от 01.07.2016»
- 2.Close B, Banister K, Baumans V, Warwick C (1997) Recommendations for euthanasia of experimental animals. Part 2 DGXT of the European Commission Laboratory Animals J. P.1-32.
- 3.Elekes K., Helyes Z., Németh J., Sándor K., Pozsgai G., Kereskai L., Börzsei R., Pintér E., Szabó A., Szolcsányi J. Role of capsaicin-sensitive afferents and sensory neuropeptides in endotoxin-induced airway inflammation and consequent bronchial hyperreactivity in the mouse. Regul Pept. 141(3); 2007. P. 44–54.

МИКРОГЛИЯ ФОРМИРУЮЩЕГОСЯ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ

Колос Е.А., Коржевский Д.Э.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

В настоящее время известно, что клетки микроглии являются первыми представителями глиальных клеток в формирующемся спинном мозге и развиваются в непосредственной близости от дифференцирующихся нейронов, астроцитов и олигодендроцитов. Предшественники макроглии идентифицируются в эмбриональном спинном мозге (СМ) на более поздних стадиях пренатального развития. Это свидетельствует о значимой роли микроглиоцитов в раннем эмбриогенезе нервной системы. До настоящего времени функции, выполняемые предшественниками микроглиоцитов на разных этапах пренатального развития, а также особенности заселения развивающегося СМ микроглиальными клетками остаются неясными.

Цель настоящего исследования – изучение локализации и распределения микроглиоцитов в спинном мозге (СМ) крыс на разных сроках пренатального развития во взаимосвязи с основными гистогенетическими процессами, протекающими в формирующейся нервной системе. Работа выполнена на эмбрионах крыс Вистар 11 – 19 сут. развития (E11 – E19, n=45). Все манипуляции с животными проводились с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ». Для идентификации клеток микроглии применяли антитела к кальций-связывающему белку Iba-1. Для исследования динамики развития клеток эмбрионального СМ использовали следующие маркеры: виментин (маркер клеток радиальной глии), даблкортин (DCX, маркер нейробластов и их нейритов) и синаптофизин (маркер синаптических везикул). Выявление первичных сенсорных афферентов, врастающих в дорсальную часть СМ, проводили с помощью маркера периферина.

Показано, что первые Iba-1⁺клетки обнаруживаются в дорсальной части СМ на E12. В вентральной области эмбрионального СМ единичные микроглиоциты появляются на E14, во время формирования первых DCX-содержащих нейробластов. На E15 наибольшая плотность микроглиальных клеток отмечена в двух зонах: в формирующемся сером веществе вентральной части СМ и в области входа заднего корешка. Также в этот срок отмечено накопление синаптофизина нейробластами передних рогов, что свидетельствует о начале функционирования нейронных цепей. Установлено, что в исследуемый период развития плотность популяции микроглиоцитов передних рогов СМ постоянно возрастает. Причем наибольший рост числа микроглиоцитов в вентральной части СМ наблюдается в ранний период эмбриогенеза – между 14 и 15 сут. Показано, что эмбриональные микроглиоциты находятся в тесных взаимоотношениях с отростками радиальной глии и отростками нейробластов передних рогов, что свидетельствует о влиянии микроглиоцитов как на нейрогенез, так и на глиогенез. Используя маркер сенсорных афферентов периферин, установлено, что E14 – E15 является периодом начала формирования связей между

центральной и периферической нервной системой (ПНС). Установлено, что в этот период плотность популяции микроглиоцитов в области входа заднего корешка возрастает почти в два раза. В более поздние сроки пренатального развития плотность популяции в изучаемой области СМ постепенно уменьшается. Таким образом, исследование динамики развития эмбрионального СМ крысы и сопоставление процессов нейрогенеза с локализацией и морфологическими изменениями эмбриональной микроглии подтверждает ее участие в нейро- и синаптогенезе, а скопление микроглиоцитов в зоне входа заднего корешка указывает на ее возможное участие в формировании связей между ЦНС и ПНС в эмбриогенезе.

ПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ 25-ГИДРОКСИХОЛЕСТЕРИНА В МОДЕЛИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ

Кузнецова Е.А.^{1,2}, Ценцевичский А.Н.,² Петров А.М.^{2,3}

¹ – Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

² – Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

³ – Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

Окисленные производные холестерина обладают высокой биологической активностью. 25-гидроксихолестерин (25-ГХ) в следовых количествах вырабатывается всеми клетками, а в ходе воспалительных реакций его концентрация в ткани и плазме повышается за счет продукции макрофагами и дендритными клетками. 25-ГХ, помимо регуляции гомеостаза холестерина, участвует в противовирусной защите, про- и противовоспалительных процессах. Его синтез усиливается при боковом амиотрофическом склерозе, заболевании, поражающим мотонейроны, нервно-мышечную передачу и мышечные волокна. Это указывает на возможное влияние 25-ГХ на патофизиологические процессы в скелетных мышцах, например, при саркопении, возникновение которой сопряжено с митохондриальной дисфункцией.

Ранее нами была показана способность 25-ГХ усиливать нервно-мышечную передачу. Этот эффект характеризуется кальций-зависимостью. Активация мембранных печеночных X-рецепторов и инозитолтрифосфатных (ИТФ) рецепторов эндоплазматического ретикулаума 25-ГХ приводила к повышению концентрации кальция в экстра- и синаптическом регионах.

В данной работе была выявлена способность 25-гидроксихолестерина снижать уровень кальция в митохондриях скелетных мышц как в норме, так и при моделировании митохондриальной дисфункции с помощью антимицина А, блокатора III комплекса электрон-транспортной цепи. Данный процесс характеризовался аналогичной кальций-зависимостью: блокада ИТФ рецепторов приводила к потере способности оксистерина регулировать кальциевый обмен в митохондриях, указывая на возможность кальцием вызывать освобождения кальция из митохондрий.

Накопление кальция митохондриями может стимулировать продукцию активных форм кислорода (АФК) и оксидативный стресс, который наблюдался при действии антимицина А в мышечных волокнах. Потенциально, 25-ГХ через выброс кальция из митохондрий может подавлять этот процесс. Данный эффект действительно наблюдался в контрольной группе и в условиях вызванной антимицином А митохондриальной дисфункции: выработка супероксид-аниона достоверно снижалась в присутствии оксистерина. Однако после мышечной нагрузки (стимуляции нервно-мышечного препарата) 25-ГХ не проявлял такой способности. Аналогичная ситуация наблюдается при хелатировании внутриклеточного кальция. Все это повторно указывает на кальций-зависимость антиоксидантного эффекта 25-ГХ.

Продукция АФК приводит к перекисному окислению липидов (ПОЛ), задействованному в нейродегенеративных заболеваниях. Нами была обнаружена способность 25-гидроксихолестерина оказывать угнетающее действие на данные процессы, что указывает на антиоксидантные свойства оксистерина. Данный эффект наблюдался при нормальном

функционировании цепи переноса электронов и при блокаде III комплекса электрон-транспортной цепи.

ПОЛ может оказывать пагубное воздействие на нервно-мышечную передачу. При митохондриальной дисфункции наблюдалось угнетение экзоцитоза синаптических везикул, которое частично устранялось внеклеточной каталазой. Это указывает на значение АФК, продуцируемых в мышце, в ретроградной регуляции нейротрансмиссии. В присутствии 25-ГХ эффективность экзоцитоза медиатора приближалась к нормальным значениям. Это указывает на возможное протективное действие оксистерина в процессах нервно-мышечной передачи и функционировании скелетных мышц.

Все эксперименты проведены с соблюдением биоэтических норм.

Работа поддержана грантом РФФИ № 21-14-00044.

ЭФФЕКТЫ УМЕРЕННЫХ ДОЗ КОФЕИНА НА ПАРАМЕТРЫ ДЫХАТЕЛЬНОГО ЦИКЛА ДО И ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ.

Кузьмина А.Ю., Аль-Тавил М., Самарин И.В., Аюева С.С., Блохина А.С., Силантьева Д.И.

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

Процесс дыхания в основном обеспечивается периодическими сокращениями дыхательных мышц, управляемых специальными центрами в нервной системе. Управление циклом дыхательных движений со стороны нервной системы осуществляется в стволе мозга нейронами дыхательного центра, собранными в дорзальную и вентральную респираторные группы. В ряде работ было показано, что нейроны, участвующие в регуляции дыхания имеют достаточно много аденозиновых рецепторов типа A_1 . Также известно, что аденозиновые рецепторы типа A_2 опосредуют регуляцию дыхания в случае гипоксии, снижая респираторный ритм. Одним из широко распространенных антагонистов аденозиновых рецепторов A_1 и A_2 типов является кофеин. В свете представленных данных целью нашего исследования было изучение кратковременных эффектов кофеина на дыхательный ритм в норме и после физической нагрузки у молодых девушек и юношей.

В эксперименте участвовали 20 человек с их добровольного информированного согласия на исследование, все экспериментальные процедуры были выполнены с соблюдением всех биоэтических норм и правил. Измерение дыхательных параметров производилось на аппарате ВЮРАС с датчиком дыхательного усилия и температуры воздушного потока. В первой части эксперимента измерения дыхательных параметров проводились в состоянии покоя до приема кофе, в котором содержалось 200 мг кофеина (концентрация рассчитана с учетом марки кофейных зерен и способа приготовления), и через 30 минут и 1 час после его приема. Во второй части эксперимента провели контрольную регистрацию дыхательных параметров в покое, затем с нагрузкой в течение 10 минут на велотренажере в среднем темпе, после чего измерили дыхательные ритмы на 1, 3 и 5 минутах после нагрузки. После 30 минут отдыха участник принимал кофе, в котором содержалось 200 мг кофеина, затем через 30 минут проводилось серия регистраций по плану контроля.

В первой серии экспериментов было показано, что кофеин достоверно увеличивает амплитуду дыхательных движений до $2,97 \pm 0,7$ мВ через 30 мин и до $3,13 \pm 0,85$ мВ через 1 час по сравнению с $2,06 \pm 0,6$ мВ в покое, и только у участников, редко принимающих кофе (менее 1 раза в неделю). Возможно, увеличение амплитуды дыхательных движений у этой группы людей связано с антифосфодиэстеразной активностью кофеина, благодаря которой за счет высвобождения большого количества кальция увеличивается сила сокращения диафрагмы. Возможно, что у людей, часто принимающих кофе снижается чувствительность к данному эффекту кофеина.

Во второй серии экспериментов у всех участников эксперимента было выявлено усиление активации дыхательных ритмов на 1 минуте восстановления после нагрузочной пробы на фоне приема кофеина равные $29,23 \pm 2,7$ движений/мин по сравнению с $20,87 \pm 2,2$ движений/мин в контроле ($P < 0,050$), чего не наблюдалось после нагрузочной пробы в нормальных условиях (без кофеина). Данный эффект подтверждает участие аденозиновых рецепторов в снижении респираторного ритма в условиях гипоксии, которая наблюдалась в период восстановления после физической нагрузки.

Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ФЕРМЕНТА ТРИПСИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МОТИВАЦИОННО-ОКРАШЕННЫХ ФОРМ ПОВЕДЕНИЯ (ПИТЬЕВОЕ, ПИЩЕВОЕ) У КРЫС

И.В. Кузьмина, Н.В. Овчинникова, С.М. Толпыго, Б.Б. Шойбонов, Т.С. Замолдчикова

ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», г. Москва, Россия

Все проходящие биохимические процессы в организме, обеспечивающие его жизнедеятельность, протекают при активном участии ферментов. Одним из наиболее значимых ферментов, играющего значительную роль в организме, является трипсин. Ранее агонист PAR-2 – трипсин рассматривали преимущественно как пищеварительный фермент. Однако в настоящее время установлено, что трипсин модулирует активность кинин-калликреиновой и ренин-ангиотензиновой систем в регуляции сосудистого тонуса и проницаемости эндотелия, гемостаза и др., вовлекается в механизмы воспалительных процессов и иммунологических реакций. При этом имеются единичные данные, что активация PAR-2 вызывает изменения поведения (на моделях тревожности, активного и пассивного избегания и др.). Однако сведений о характере активности трипсина в сыворотке крови при реализации таких мотивационно-окрашенных форм поведения как питьевое и пищевое у животных в литературе не найдено.

В связи с этим, *целью исследования* являлось изучение изменений активности трипсина в сыворотке крови после пищевой и водной депривации, а также на фоне насыщения, у взрослых половозрелых крыс.

Методика исследования. Опыт выполняли на 3 группах (по 7 животных в каждой) лабораторных крыс популяции «Wistar», с массой тела 250 – 300 г. Контрольная группа имела свободный доступ к корму и воде. В течение двух суток животным в опытной 1 группе ограничивали в доступе к воде, а в опытной группе 2 – к корму.

Животных содержали в виварии с контролируруемыми условиями окружающей среды: температура 18 – 26°C, относительная влажность 30 – 70%, автоматическая смена 12-часового светового периода, 100%-ное вентилирование. Все эксперименты проводили в соответствии с приказом Минздрава РФ № 199 от 1.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», а также с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции о защите экспериментальных животных. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина».

Кровь для анализа отбирали из хвостовой вены, используя вакуумные пробирки с активатором свертывания. Активность трипсина и других биохимических показателей в сыворотке крови определяли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Sinnova BS-3000P» (КНР) с использованием соответствующих наборов реагентов.

Статистическую обработку данных проводили по алгоритмам программы Excel с использованием t-критерия Стьюдента для малых групп, изменения показателей считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследований. При биохимических исследованиях сыворотки крови были обнаружены разнонаправленные изменения в активности трипсина в условиях жажды и голода. Так, при лишении воды у животных наблюдали наиболее высокую активность данного фермента, которая на 23,2% увеличивалась по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). На фоне пищевой депривации у крыс, напротив, было обнаружено достоверное снижение активности данного фермента на 23,3%.

Через час после предоставления депривированным животным воды и корма в обеих опытных группах было выявлено однонаправленное достоверное ($p \leq 0,05$) снижение активности трипсина на 37,3% и 92,3% соответственно по сравнению с контрольной группой.

АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ РЕЦЕПТОРА ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА/ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА НА ОСНОВЕ СТРУКТУРЫ ТИЕНО[2,3-d]-ПИРИМИДИНА СО СЛОЖНЫМ ПРОФИЛЕМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Лебедев И.А.,¹ Бахтюков А.А.,¹ Деркач К.В.,¹ Сорокоумов В.Н.,² Кузнецова В.С.,¹ Шпаков А.О.¹

¹ – *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия;* ² – *Институт химии, Санкт-Петербургский государственный университет, Петергоф, Россия*

При ряде патологий мужской репродуктивной системы (стероид-зависимые опухоли, преждевременное половое созревание) необходимы подходы для ослабления тестикулярного стероидогенеза. Одним из перспективных классов соединений, которые могут быть для этого использованы, являются низкомолекулярные соединения с активностью антагонистов или инверсионных агонистов рецептора лютеинизирующего гормона/хорионического гонадотропина (ЛГ/ХГ-Р), которые способны ингибировать стимулированный гонадотропинами синтез тестостерона клетками Лейдига, а в случае инверсионных агонистов также снижать базовую активность ЛГ/ХГ-Р. Нами активно разрабатываются аллостерические лиганды ЛГ/ХГ-Р на основе структуры тиено[2,3-d]-пиримидина, которые, в отличие от гонадотропинов – ЛГ и ХГ человека, связываются не с внеклеточным высокоаффинным ортостерическим сайтом, а с аллостерическим сайтом, расположенным в трансмембранном канале рецептора. Целью исследования было изучение фармакологического профиля двух новых соединений, 5-амино-4-(3-((бис(диметиламино)метил)амино)фенил-N-(трет-бутил)-2-(метилтио)тиено-[2,3-d]-пиримидин-6-карбоксамид (ТРХ51) и 5-амино-N-(трет-бутил)-2-(метилтио)-4-(3-(пиримидин-3-сульфонамидо)фенил)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (ТРХ3), по их влиянию на базовый и ХГЧ-стимулированный тестикулярный стероидогенез у самцов крыс. В экспериментах *in vitro*, в первичной культуре клеток Лейдига, оба соединения оказывали на продукцию тестостерона стимулирующий эффект, хотя и уступали по этому показателю ХГЧ и другому аллостерическому регулятору – ТР03. Однако в экспериментах *in vivo* при введении половозрелым самцам крыс соединения ТРХ51 и ТРХ3 сначала стимулировали продукцию тестостерона (через 60 мин), но затем (через 120 – 360 мин) оказывали ингибирующий эффект на продукцию гормона. Предобработка этими препаратами крыс перед введением им агонистов ЛГ/ХГ-Р ХГЧ и ТР03 в значительной степени ослабляла их стимулирующие эффекты на продукцию тестостерона. В семенниках оценивали экспрессию холестерина-транспортирующего белка StAR, который является скоростью-лимитирующим белком первой стадии стероидогенеза. Показано, что оба соединения

сравнительно слабо влияют на базовый уровень экспрессии гена *StAR*, но в значительной степени снижают его стимуляцию ХГЧ и ТРОЗ, что хорошо коррелирует с их ингибирующим влиянием на уровень тестостерона. Хотя выраженность влияний ТРХ51 и ТРХ3 на базовый и стимулированный тестикулярный стероидогенез различалась, оба соединения по фармакологическому профилю могут быть отнесены к инверсионным агонистам ЛГ/ХГ-Р. Парадоксальное различие между активностью ТРХ51 и ТРХ3 в условиях *in vitro* и *in vivo*, а также быстрое затухание их стимулирующего эффекта на тестикулярный стероидогенез и переход его в ингибирующий эффект могут быть обусловлены процессами биотрансформации молекул исследованных соединений или избирательным запуском каких-то молекулярных механизмов, влияющих на десенситизацию ЛГ/ХГ-Р (например, β -аррестиновых каскадов), что требует дальнейших исследований. Все эксперименты на животных были выполнены с соблюдением требованиям Этического комитета ИЭФБ РАН, «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» and the European Communities Council Directive recommendations for the care and use of laboratory animals (2010/63/EU).

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект № 19-75-20122).

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ РИТМА СЕРДЦА УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ 7 – 10 ЛЕТ И ДЕТЕЙ, НАХОДЯЩИХСЯ НА РЕАБИЛИТАЦИИ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ

Лихоманова Е.Н.^{1,2}, Ковалева А.В.¹

¹ – ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия

² – ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» ЛРНЦ «Русское поле», Чехов, Россия

Введение. Известно, что вариабельность ритма сердца (ВРС) отражает адаптационные процессы организма (Dulleck et al., 2014). Традиционно для анализа ВРС используют спектральные (частотные) показатели (хотя зачастую они демонстрируют противоречивые данные), при этом исключая из анализа нелинейные (например, *ApEn*, являющийся независимым параметром) и временные (Бахчина, Александров, 2017). У детей вегетативная регуляция сердечно-сосудистой деятельности формируется постепенно (Панина и др., 2018; Созинова, Бахчина, Александров, 2017). Отмечается, что в результате различных повреждений ЦНС нарушается контроль работы сердца со стороны нервной системы (Yahaloma et al., 2023). Однако по данным Sakan P. et al. (2022) изменения, вызванные интенсивной высокодозной химиотерапией, не сохраняются при поддерживающей. **Целью** работы было исследование особенностей ВРС, оцененной по трем основным видам анализа, у детей младшего школьного возраста, перенесших нейроонкологическое заболевание, по сравнению с условно здоровыми детьми.

Методы. Выборку составили 19 пациентов, находящихся на динамическом наблюдении (от полугода) после лечения опухоли головного мозга (ОГМ) (9.2 ± 0.77 лет) и 36 условно здоровых детей (8.7 ± 1.23 лет). В группе пациентов были следующие типы новообразований: медуллобластома ($n=8$), астроцитомы ($n=6$), эпендимомы ($n=4$), глиомы и герминомы (по 1 человеку). В состоянии покоя (сидя с открытыми глазами) у детей регистрировали фотоплетизмограмму (датчик на подушечке большого пальца левой руки) в течение трех минут. Непрерывный ряд кардиоинтервалов, выделенных из ФПГ, анализировали при помощи программы Kubios HRV Standard 3.5.0 с вычислением показателей, характеризующих особенности ритма сердца, при помощи трех основных видов анализа: частотного, временного и нелинейного. Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакета статистических программ Statistica 12: описательные статистики, сравнение независимых выборок по непараметрическому критерию Манна-Уитни, корреляционный анализ.

Результаты. Наиболее популярный на сегодняшний день вид анализа ритма сердца – частотный – оказался в нашем случае нечувствительным методом: подгруппы детей не различались по показателям LF (% , n.u.), HF (% , n.u.) и их отношения LF/HF. Самые медленные колебания в диапазоне VLF не анализировались, поскольку длительность записи была ограничена 3 минутами, а согласно рекомендациям (Самм А. J. et al., 1996; Баевский и др., 2001) для оценки мощности VLF необходимо не менее 5 минут. При этом по результатам временного анализа ритма сердца по всем показателям вариабельность в контрольной группе была статистически значимо выше, а ЧСС – ниже. Также различались и некоторые нелинейные показатели: оба параметра облака Пуанкаре SD1 и SD2 в контроле были выше, но их отношение (SD2/SD1) не различалось. Показатель аппроксимированной энтропии (ApEn) в контроле был ниже. Известно, что многие показатели ВРС, полученные по разным методам анализа, взаимосвязаны (Кулаичев, 2012). Результаты корреляционного анализа полученных показателей ВРС в каждой подгруппе отдельно показал, что в контрольной группе взаимосвязей между разными показателями значительно больше (в том числе с возрастом), чем в группе с ОГМ.

Заключение. Информативность методов анализа ВРС различна, и использование только одного метода может ограничить и исказить результаты. Согласно временному и нелинейному анализу ВРС у пациентов, находящихся на реабилитации после терапии по поводу ОГМ, снижена, что может приводить к их повышенной утомляемости и риску развития нарушений в работе сердечно-сосудистой системы.

МИОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА НЕКВАНТОВОГО АЦЕТИЛХОЛИНА

Лопатина Е.В.^{1,2}, Гавриченко А.В.¹, Пасатецкая Н.А.^{1,3}, Соколова М.Г.^{4,5}

¹ – *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия*

² – *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

³ – *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

⁴ – *Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия*

⁵ – *Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

Нервно-мышечные аутоиммунные заболевания всегда сопровождаются нарушением трофики скелетных мышц вне зависимости от локализации патологического процесса. Хроническая воспалительная демиелинизирующая полиневропатия (ХВДП) – это приобретенная хроническая аутоиммунная полиневропатия, обусловленная воспалительной демиелинизацией нервного волокна с развитием вторичной аксонопатии и денервационной атрофии скелетных мышц. Распространенность ХВДП составляет 0,81 – 1,90 случая на 100 тыс. населения. Мужчины болеют в 1,5 раза чаще женщин.

Ацетилхолин – нейромедиатор в нервно-мышечном соединении, способный выделяться в синаптическую щель в квантовом виде и в виде неквантовой утечки. Неквантовый ацетилхолин повышает работоспособность непрерывно утомляемой скелетной мышцы. Эффект не связан с его действием на холинорецепторы, а опосредован влиянием на Na^+/K^+ -АТФазу. Данных о возможных трофотропных эффектах неквантового ацетилхолина до настоящего времени не было.

Целью работы является изучение миопротективных свойств неквантового ацетилхолина в норме и на модели миопатического (мышечного) компонента ХВДП *in vitro*.

Под наблюдением находились 32 пациента. Возраст больных составил от 47 до 66 лет (медиана возраста 54,3 лет). Всем пациентам в ходе клинко-инструментального исследования

был выставлен диагноз ХВДП. От каждого больного было получено письменное информированное согласие. Контрольную группу составили 25 здоровых добровольцев. Проведено клинично-неврологическое обследование, иммуноферментный анализ плазмы крови (кит ELISA), электронейромиография. Разработана методика органотипического культивирования ткани скелетной мышцы 10 – 12 дневных куриных эмбрионов и модель миопатического (мышечного) компонента ХВДП *in vitro*. Изучены тропотропные эффекты ацетилхолина и оубаина в широком диапазоне концентраций в условиях нормы и на модели ХВДП. Всего исследовано 6200 эксплантатов. Анализ полученных данных проводили с использованием морфометрического метода и программы STATISTICA 10.0.

Обнаружено, что уровень антител к никотиновым холинорецепторам в плазме крови больных ХВДП повышен ($0,42 \pm 0,087$ нмоль/л) и в разведениях 1:70 и 1:100 плазма ингибирует рост эксплантатов ткани скелетной мышцы. Миопротективный эффект некантового ацетилхолина в норме и на модели миопатического компонента ХВДП *in vitro* реализуется прямо за счет активации сигнальной функции Na^+/K^+ -АТФазы и рецептор-опосредованно за счет модуляции внутриклеточного сигнала в ансамбле Н-холинорецептор – Na^+/K^+ -АТФаза.

ПОСТКОЛИТНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ВКЛАДА 5-НТ1А-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ В СУПРАСПИНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АБДОМИНАЛЬНОЙ БОЛИ

Любашина О.А.^{1,2}, Сиваченко И.Б.¹, Сушкевич Б.М.¹, Бусыгина И.И.¹

¹ – *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,*

² – *Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова
Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия*

Модуляторы периферических и центральных серотониновых рецепторов в настоящее время рассматриваются в качестве перспективных средств для купирования рекуррентной абдоминальной боли, беспокоящей пациентов с воспалительными заболеваниями пищеварительного тракта в стадии ремиссии или поствоспалительным синдромом раздраженной кишки. К числу таких препаратов относят агонисты 5-НТ1А рецепторов, которые продемонстрировали антиноцицептивные свойства в экспериментальных моделях абдоминальной боли на здоровых животных. Однако, имеющиеся данные о нейропластических перестройках в серотонинергической системе головного мозга, которые возникают при кишечном воспалении и способны сохраняться после его полного разрешения, позволяют предполагать, что вклад 5-НТ1А-зависимых механизмов в супраспинальный контроль висцеральной боли в норме и после перенесенного органического воспаления может различаться, приводя к изменениям терапевтического действия 5-НТ1А-агонистов в поствоспалительный период.

Целью проведенного нами исследования являлась сравнительная оценка эффектов 5-НТ1А-агониста буспилона на супраспинальные нейрональные и поведенческий маркеры абдоминальной ноцицепции в норме и после перенесенного кишечного воспаления (колита).

Эксперименты выполнены на взрослых самцах крыс линии Вистар с соблюдением основных биоэтических правил. У здоровых или перенесших экспериментальный колит животных в анестезированном (1.5 мг/кг уретана, в/бр) или бодрствующем состоянии производили соответственно внеклеточную микроэлектродную регистрацию ответов нейронов продолговатого мозга или электромиографическую запись висцеромоторной реакции (ВМР) на болевое колоректальное растяжение (КРР) до и после внутривенного или подкожного введения буспилона (Sigma-Aldrich, США).

У крыс, протестированных через 14 – 37 дней после разрешения колита, исходно индуцированного пикрилсульфониевой кислотой (TNBS, Sigma-Aldrich, США), реакции

нейронов продолговатого мозга и ВМР на болевое колоректальное растяжение были усилены по сравнению с таковыми в норме, свидетельствуя о развитии поствоспалительной кишечной гипералгезии. Внутривенное введение буспирона (2 и 4 мг/кг) дозозависимо подавляло КРР-вызванное возбуждение бульбарных нейронов у здоровых анестезированных крыс, но вызывало независимое от дозы усиление их ноцицептивной активации у постколитных животных, теряя у последних также способность подавлять системные гемодинамические реакции на КРР. В согласии с продемонстрированными нейрональными эффектами, подкожное введение 5-НТ1А-агониста (2 мг/кг) бодрствующим крысам, которое ослабляло ВМР на болевое КРР в норме, еще более усиливало эту реакцию у животных с поствоспалительной кишечной гипералгезией.

Полученные данные свидетельствуют, что для постколитного периода характерна трансформация вклада 5-НТ1А-зависимых механизмов в супраспинальный контроль висцеральной боли из присущего в норме тормозного в усиливающий, что указывает на нецелесообразность применения буспирона и, возможно, других 5-НТ1А-агонистов для купирования поствоспалительной абдоминальной боли в клинике.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00151, <https://rscf.ru/project/23-25-00151/>.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ФАКТОРОВ

Марков А.Г.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Эндотелий кровеносных сосудов головного мозга является одной из ключевых структур гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), который обеспечивает регулируемый транспорт ионов, воды и различных веществ между плазмой крови и паренхимой головного мозга. Селективный межклеточный транспорт в эндотелии кровеносных сосудов приводит к стабилизации состава межклеточной жидкости ткани мозга и поддержанию функций нейронов. Барьерные свойства эндотелия кровеносных сосудов определяются белками плотных контактов семейства клаудина, а также окклюдинам. В формировании структуры плотных контактов важная роль принадлежит липидам плазматической мембраны, объединенными вместе с белками плотных контактов в липидный рафт. Развитие нейродегенеративных заболеваний и психиатрических расстройств коррелирует с изменением клаудинов в эндотелии сосудов головного мозга.

Исследовали влияние метил-бета-циклодекстрина (МБЦД), который вызывает дестабилизацию липид-упорядоченной фазы плазматической мембраны, убаина, агониста Na/K-АТФазы, и гравитационной разгрузки на уровень белков плотных контактов в лобных долях мозга крысы. Самцам крыс внутривенно вводили МБЦД (5 мг/кг массы тела), убаин (1 мкг/кг/сутки) или подвергали гравитационной разгрузке. Опыты на животных были проведены в соответствии с требованиями по биомедицинской этике РФ и с одобрения Комитета по биоэтике Санкт-Петербургского университета. Пробы ткани лобных долей головного мозга крыс брали для проведения Вестерн блота и иммуногистохимии.

МБЦД вызывает значительное снижение уровня клаудина-5 и трехкратное увеличение окклюдина в ткани лобных долей мозга крысы. Уровень клаудина-1 остается без изменений. Клаудин-5 вносит основной вклад в непроницаемость эндотелия кровеносных сосудов, поэтому можно предположить, что изменение упорядоченности липидной фазы рафтов может привести к увеличению межклеточной проницаемости. Таким образом, липидный состав плазматической мембраны эндотелия кровеносных сосудов головного мозга крысы является

важным молекулярным компонентом плотных контактов и может принимать участие в поддержании и регуляции барьерных свойств гематоэнцефалического барьера.

Введение убаина и гравитационная разгрузка повышали уровень клаудина-1, не влияя на уровень других белков плотных контактов. Двойное иммуногистохимическое окрашивание с применением маркера межклеточных контактов эндотелия кровеносных сосудов (PECAM-1) и белками плотных контактов, а также последующий анализ изображений на конфокальном лазерном микроскопе подтверждают, что изменение уровня клаудина-1, -5 и окклюдина во всех сериях экспериментов локализовано в эндотелии кровеносных сосудов. Эти данные позволяют предположить, что в условиях применения различных повреждающих факторов адаптационные изменения в плотных контактах, регулирующих проницаемость эндотелия сосудов, реализуются за счет мозаичности молекулярных детерминант этих структур и активации различных сигнальных путей. В обеспечение пластичности гематоэнцефалического барьера включены белки плотных контактов эндотелия кровеносных сосудов головного мозга.

ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ ВЫРАБОТАННОСТИ ДВИГАТЕЛЬНОГО НАВЫКА В СТРУКТУРЕ ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННОЙ ПРОГРАММЫ ДЕЙСТВИЙ

Маслюков А.П., Умрюхин А.Е.

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова.

Введение: при многократном повторном выполнении двигательного навыка происходит оптимизация его структуры и контроля. Упорядочиваются временные интервалы между отдельными компонентами выполняемого движения, и автоматизируется контроль реализуемой программы движения. Автоматизация двигательного навыка сопровождается переносом активного внимания и произвольного контроля выполняемого движения на другие задачи, сопровождающие выполняемое движение. Электрографическим корковым эквивалентом формирования и запуска двигательного компонента моторной программы служит двигательный потенциал готовности, предвещающий выполнение произвольного мышечного движения. Представляет интерес, изменяется ли корковый процессинг инициации волевого мышечного движения в структуре целенаправленной программы при различной степени выработанности мышечного движения.

Целью исследования было изучение коркового процессинга мышечного движения при различной степени выработанности двигательного навыка.

Материалы и методы: Здоровые волонтеры мужчины 19 – 23 лет выполняли тест на компьютере. Во время выполнения теста испытуемым предлагалась математическая задача, ответ на которую необходимо было дать нажатием одной из трёх кнопок на клавиатуре компьютера, при этом каждой кнопке соответствовал определённый палец: указательный, средний или безымянный. Через 2 секунды необходимо было нажать на другую кнопку клавиатуры большим пальцем для перехода к следующему вопросу. Такая последовательность повторялось 50 раз. При этом анализировали характеристики нажатий большим пальцем с первого по пятнадцатое, которые считали за начальные в выработке двигательной программы, и с 35 по 50 – которые характеризовали конечные движения. Во время тестирования у испытуемых регистрировали электромиограмму (ЭМГ) и электроэнцефалограмму (ЭЭГ) по принятой международной системе 10 – 20, 19 активных каналов. За начало мышечного движения принимали момент прироста амплитуды сигнала ЭМГ на 20% от максимальной амплитуды ЭМГ во время соответствующего движения. Результаты записи ЭЭГ и ЭМГ были обработаны при помощи библиотеки MNE Python, а также программы «Brainstorm». Для анализа изменений моторной коры были взяты отведения F1, F2, F3, F4, Fz.

Результаты показали, что при многократном повторении нажатия кнопки большим пальцем происходило укорочение среднего времени прироста амплитуды ($0,2 \pm 0,013$ с в начале против $0,155 \pm 0,018$ с в конце). Так же изменилось среднее время между нажатиями, оно приблизилось к целевому времени 2 секунды ($3,11 \pm 0,31$ с в начале против $2,33 \pm 0,26$ с в конце). При целенаправленных движениях, не нагруженных когнитивной задачей в виде решения математического примера на ЭЭГ в моторной области, произошло увеличение амплитуд раннего и позднего компонентов потенциала готовности, что свидетельствует об изменении корковых коррелятов произвольного моторного контроля движения при его автоматизации. В то же время в задачах, сопровождаемых когнитивной нагрузкой (при нажатии пальцем соответствующей решению математической задачи кнопки), не произошло значимых изменений в ДВП.

Выводы: при многократном повторении движения наряду с оптимизацией его структуры изменяется его корковый процессинг, что выражается в изменениях раннего и позднего компонентов потенциала готовности движения.

РОЛЬ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА В РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ

Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Гипоталамус является наиболее важным интегратором вегетативной и эндокринной регуляции и отвечает за рост, развитие, репродуктивную функцию и метаболизм. К одной из концепций в геронтологии следует отнести элевационную теорию старения и формирования возрастной патологии у высших организмов, придающую ключевое значение в этих процессах возрастному повышению порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим сигналам. При этом важная роль отводится дорсомедиальному (ДМЯ) ядру гипоталамуса.

Целью исследования являлся анализ изменений нейрохимического состава, нейронной активности и уровня микроРНК в ДМЯ гипоталамуса, а также оценке влияния микроРНК на биохимические маркеры старения в плазме крови с использованием иммуногистохимических, электрофизиологических методов, вестерн-блоттинга, иммуноферментного анализа, а также ПЦР-РТ у самцов крыс в возрасте 3, 12 и 24 месяца.

Результаты показали, что при старении происходят разнонаправленные сдвиги нейрохимического состава ДМЯ крыс, сопровождающиеся изменениями экспрессии нейрохимического состава, компонентов инсулинового, адипокинового и воспалительного сигналинга в нейронах ядра. В нейронах ДМЯ отмечалось снижение экспрессии кальбиндина, сиртуина 1 и возрастание уровня кальретинина и нейрональной NO синтазы у старых животных. При этом также обнаруживалось уменьшение экспрессии mTOR, возрастание экспрессии АКТ, тогда как уровень Р13К достоверно не изменялся. Частота импульсации нейронов ДМЯ с возрастом снижается, при этом, в отличие от молодых животных, их активность в меньшей степени ингибируется холецистокинином. Наблюдалось статистически значимое снижение экспрессии микроРНК let-7a-5p, miR-9a-3p, miR-132-3p и miR-218a-5p в нейронах ДМЯ, преимущественно у самцов. В свою очередь, у старых самцов крыс под влиянием миметиков микроРНК let-7a-5p, miR-9a-3p, miR-132-3p и miR-218a-5p при введении в ДМЯ нормализовалось содержание маркеров возрастных изменений (уровень С-реактивного белка, миоглобина, фактора роста фибробластов FGF2 в плазме крови, в то время как введение ингибиторов оказывало противоположный эффект. При введении ингибиторов микроРНК в ДМЯ наблюдалась значительная гибель старых крыс в сравнении с более молодыми животными.

Таким образом, ДМЯ гипоталамуса влияет на регуляцию процессов старения за счет снижения выделения специфических микроРНК.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-15-00039).

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИИ РАВНОВЕСИЯ У ФИЗИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДЕВУШЕК В РЕЗУЛЬТАТЕ БАЛАНС-ТРЕНИРОВКИ

Мельников¹ А.А., Смирнова² П.А., Малахов³ М.В, Мельникова Л.И.²

¹ – *Российский университет спорта «ГЦОЛИФК», г. Москва*

² – *Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, г. Ярославль.*

³ – *Ярославский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Ярославль*

Баланс-тренировка – это методика физической тренировки, направленная на улучшение функции равновесия. Упражнения на развитие баланса снижают риск падения у пожилых людей, а также позволяют предотвратить спортивные травмы (особенно суставов нижних конечностей). Кроме того, баланс-тренировка позволяет улучшить как статический, так и динамический поструральный баланс. Вместе с тем, физиологические механизмы, лежащие в основе перечисленных положительных эффектов, изучены недостаточно. Предполагается, что функция равновесия улучшается за счёт как увеличения силы поструральных мышц, так и совершенствования их проприоцептивной чувствительности. Цель нашего исследования – оценить влияние 10-недельной баланс-тренировки на статическую и полудинамическую устойчивость вертикальной моноопорной (на одной ноге) позы.

В исследовании принимали участие здоровые физически-активные девушки (n=26), возраст $19,8 \pm 1,1$. 13 человек вошли в группу «Контроль», 13 – в группу «Баланс». Испытуемые из группы «Контроль» два раза в неделю занимались по программе «Физическая культура». Группа «Баланс» три раза в неделю в течение 50 – 60 мин тренировались по программе, направленной на улучшение функции равновесия: испытуемые выполняли статодинамические упражнения на гимнастической скамье, балансирующих досках и пресс-папье. Статическую устойчивость определяли в стойке на неведущей ноге на стабиллоплатформе «Стабилан-01» (ЗАО ОКБ «Ритм»). Полудинамическую устойчивость оценивали на подвижном в сагитальной плоскости пресс-папье, расположенном на стабиллоплатформе. Все тесты проводились сначала с открытыми (ОГ), затем с закрытыми (ЗГ) глазами. Измеряли показатели, отражающие колебания центра давления (ОЦД): V (мм/с) – линейную скорость колебания ОЦД, а также S (мм²) площадь колебаний ОЦД. Для полудинамической устойчивости также оценивали время сохранения равновесия (с). Специфическая (или поструральная) проприоцептивная чувствительность определялась как способность к активному воспроизведению угла наклона прямым телом в голеностопном суставе в биопорном (на обеих ногах) положении с закрытыми глазами. Все исследования проведены в соответствии с положениями биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г., и одобрены локальным биоэтическим комитетом ЯГПУ им. К.Д. Ушинского (г. Ярославль). Статистическая обработка выполнена с помощью программы Statistica v12. Сравнение показателей между группами проводилось посредством U-критерия Манна-Уитни. Для оценки различий функциональных показателей на разных этапах эксперимента использовался двухфакторный анализ для повторных измерений (ANOVA).

Нами установлено, что как в статических, так и в полудинамических тестах после 10-недельного периода тренировки устойчивость в группе «Баланс» в условиях ЗГ была выше, чем у контрольных испытуемых, что проявлялось в снижении показателя S ($p < 0,01$). В полудинамическом тесте (на пресс-папье) в группе «Баланс» также отмечалось более

выраженное по сравнению с группой «Контроль» уменьшение показателя V. Скорость колебаний ОЦД отражает напряжение системы постурального контроля. Также в группе «Баланс» под влиянием специфической тренировки произошло значительное увеличение времени сохранения равновесия ($p=0,01$), при этом этот показатель стал намного выше, чем в контрольной группе ($p=0,001$). Кроме того, после баланс-тренировки в группе «Баланс» уменьшилась ошибка воспроизведения наклона вертикальным телом в условиях ЗГ ($p=0,028$), что отражает улучшение проприоцептивной чувствительности.

Таким образом, эффект баланс-тренировки был наиболее выраженным в улучшении полудинамического равновесия в условиях отсутствия зрительной информации. Существенный вклад в улучшение функции равновесия, по-видимому, вносит совершенствование проприоцептивной чувствительности постуральных мышц.

ДИНАМИКА УСПЕШНОСТИ ВЫПОЛНЕНИЯ СЕНСОМОТОРНОГО ТРЕНИНГА В ГРУППАХ С РАЗЛИЧНОЙ ИСХОДНОЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬЮ ПРИ ИЗМЕНЕНИЯХ СОЦИАЛЬНОГО КОНТЕКСТА ДИАДИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Меськова Е.С.¹., Берхина А.Г.¹., Муртазина Е.П.¹., Гинзбург-Шик Ю.А.¹., Ермакова О.И.¹.,
Зотова О.М.².

¹ – ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия

² – ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия
meskova_katerina@rambler.ru

Особенности выполнения действий человека зависят от социального контекста, в котором они совершаются. Межличностная координация является важной составляющей любых взаимодействий и определяет необходимость учёта человеком характеристик социального контекста, особенностей поведения других лиц для корректировки собственных действий. Существуют исследования, в которых показано влияние социальных условий на результативность деятельности, в том числе на скорость и успешность обучения. Дальнейшее изучение роли социального контекста в обеспечении успешной межличностной координации является актуальным направлением исследований в современной нейросоциобиологии. Сотрудниками лаборатории общей физиологии функциональных систем был разработан протокол исследования целенаправленной деятельности, позволяющий оценивать результативность выполнения задания в индивидуальном, соревновательном и кооперативном контекстах. Для этих целей был использован сенсомоторный тренинг «Столбики» с биологической обратной связью от ЭМГ сигналов комплекса «БОС-Кинезис» (ООО «Нейротех», Таганрог, РФ). Задача участников состояла в удержании высоты столбика в целевом диапазоне, которая регулировалась мышечным напряжением сгибателей кисти ведущей руки. Результативность оценивалась по длительности удержания высоты столбика в целевом диапазоне («отлично»), а также по времени нахождения столбика выше («хорошо выше», «плохо выше») или ниже («хорошо ниже», «плохо ниже») заданного диапазона в процентах от общего времени тренинга. На первом этапе испытуемые обучались заданию индивидуально, на втором – выполняли тест в условиях соревнования с соперником; на третьем – партнеры кооперативно удерживали высоту общего столбика. В исследовании приняли участие 65 пар испытуемых мужского пола. На основании анализа успешности выполнения задания в индивидуальном контексте были выделены три группы участников: высоко-, средне- и низкорезультативные. Статистический анализ выявил влияние социальных условий на успешность выполнения задания и межгрупповые различия. Так, у участников с высокими результатами на сольном этапе при переходе к совместной деятельности наблюдалось снижение результативности, наиболее выраженное в ситуации кооперации. Для исходно среднерезультативных испытуемых происходило снижение результативности при

переходе к кооперативной деятельности, но не при соревновательной. Участники, показавшие низкие индивидуальные результаты, демонстрировали рост успешности в условиях соревновательной и кооперативной деятельности, наиболее выраженный в контексте сотрудничества. Полученные результаты исследования могут внести вклад в изучение особенностей межличностной сенсомоторной координации человека в различных контекстах социальных взаимодействий, что позволит расширить современные представления о системных механизмах обеспечения успешной совместной деятельности. Исследование проводилось с соблюдением норм биомедицинской этики.

ПРИМЕНЕНИЕ НЕИНВАЗИВНОЙ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ СПИННОГО МОЗГА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ СПИНАЛЬНЫХ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ МЫШЦ ВЕРХНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ТРАВМОЙ СПИННОГО МОЗГА

Милицкова А.Д., Мухаметова Е.Р., Лавров И.А.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

По данным исследований от 60 до 80% от общего числа ТСМ представляют собой травмы в шейном отделе позвоночника. Потеря двигательных функций как верхних, так и нижних конечностей приводит к глубокой инвалидизации пострадавших, потере мобильности, общения, невозможности самостоятельного ухода за собой. Разработка методов по изучению функциональной организации нейрональных сетей вместе с развитием технологии чрескожной электрической стимуляции спинного мозга (ЧЭССМ) позволят открывать новые методы реабилитации после ТСМ и изучать механизмы двигательного контроля.

Целью данного исследования являлась оценка амплитудных характеристик моторных ответов мышц верхних конечностей, вызванных чрескожной электрической стимуляцией спинного мозга у пациентов с травмой спинного мозга.

В исследовании принимали участие 3 субъекта (1 женщина и 2 мужчин) с ТСМ на уровне С4 – С5 позвонков с исходным уровнем неврологических нарушений типа А по шкале AIS (Abbreviated Injury Scale). Для оценки сегментарной возбудимости мотонейронов спинного мозга после его травматического повреждения была произведена регистрация моторных ответов мышц верхних конечностей вызванных ЧЭССМ на уровне С3 – С4, С4 – С5 и С6 – С7 позвонков. ЧЭССМ производилась с длительностью стимула 1 мс, интенсивностью от 5 до 60mA. Регистрация вызванных ответов осуществлялась с помощью поверхностных регистрирующих электродов и электронейромиографа «Нейро МВП-8» (Нейрософт, г. Иваново, Россия).

Полученные результаты показали, что ЧЭССМ на уровне шейного утолщения индуцировала двигательные реакции во всех исследованных мышцах верхних конечностей, при этом у 2 из 3 субъектов с ТСМ наблюдалась билатеральная асимметрия значений амплитуд моторных ответов. Наибольшие значения амплитуд ответов у всех испытуемых были зарегистрированы на уровне С3 – С4 позвонков ($p \leq 0,05$). При этом было отмечено, что амплитуда ответов на уровне повреждения спинного мозга (С4 – С5) у 2 испытуемых с ТСМ достоверно ниже, чем на уровнях выше и ниже области ТСМ ($p \leq 0,05$).

Таким образом, полученные результаты в дальнейшем могут быть полезными в условиях, когда изменение характеристик вызванных ответов могут являться диагностическим критерием при тестировании пациентов с двигательными нарушениями.

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ОТСРОЧЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОХОДКИ И СОДЕРЖАНИЯ МОНОАМИНОВ У МЫШЕЙ C57BL/6 ПОСЛЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ОЛИГОМЕРОВ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА

Михайлова Н.П., Грудень М.А., Соловьева О.А., Сторожева З.И., Шерстнев В.В.

ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва, Россия;

Нарушения походки являются часто встречаемыми и наиболее инвалидизирующими двигательными нарушениями при болезни Паркинсона (БП) – широко распространенном хроническом прогрессирующем нейродегенеративном заболевании. Выраженность нарушений походки в значительной мере определяет тяжесть состояния и качество жизни пациентов с БП, а также используется для прогноза развития заболевания и оценки эффективности проводимого лечения. Исследование ходьбы в экспериментальных моделях БП является эффективным инструментом изучения нейрохимических и молекулярных механизмов заболевания. В последнее время были получены данные о существенной роли изменений уровня и конформационной структуры белка α -синуклеина (α -syn) в патогенезе БП. В настоящем исследовании была проведена оценка параметров походки мышей и уровня содержания моноаминов в мозжечке и фронтальной коре (ФК) в условиях моделирования БП путем хронического интраназального введения олигомеров α -syn. Самцам мышей C57BL/6J трёхмесячного возраста в течение 14 дней интраназально вводили раствор олигомеров рекомбинантного α -синуклеина либо физиологический раствор с последующим тестированием походки (модификация footprint test, программы RecognitionOfSteps и EthoVision) в возрасте 6 месяцев. Затем животных декапитировали и определяли уровень норадреналина (NA), дофамина (DA), серотонина (5HT), и их метаболитов в мозжечке и ФК. Все манипуляции с животными были проведены с соблюдением требований, изложенных в директиве ЕС 2010/63/ EU от 22 сентября 2010. Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Через 3 месяца после введения у мышей, получавших α -syn, в сравнении с контрольной группой наблюдалось значимое снижение двигательной активности: уменьшение скорости движения, увеличение длительности периодов сниженной двигательной активности ($p < 0.05$), снижение времени до первого такого эпизода ($p < 0.01$). В экспериментальной группе мышей также было выявлено сокращение длины шагов передних ($p < 0.01$) и задних лап ($p < 0.01$). Кроме того, у мышей, получавших α -syn, наблюдались признаки неустойчивости при ходьбе: увеличение ширины шага задних лап ($p < 0.05$), увеличение расстояния между центрами передней и задней правых лап ($p = 0.01$), а также признаки изменений в инициации движения – сокращение первого шага правой ($p < 0.05$) и левой ($p < 0.01$) передних лап. Нейрохимический анализ выявил у мышей, получавших α -syn тенденцию к снижению уровня содержания DA и его метаболита (3-MT) во ФК ($p < 0.1$) и достоверное снижение их соотношения в мозжечке ($p < 0.05$), а также значимое увеличение содержания 5HT в мозжечке ($p < 0.05$). При этом в контрольной группе наблюдалась отрицательная корреляция ширины шага задних лап с показателями метаболизма дофамина в мозжечке (R-Спирмен, $p < 0.01$), которой не было обнаружено у мышей с введением α -syn. Показана тенденция к снижению содержания метаболита NA (MHPG) во ФК ($p < 0.1$), при этом у контрольной группы наблюдается положительная корреляция его содержания с длиной первого шага передних лап и средней длиной шага передних лап (R-Спирмен, $p < 0.05$); в группе α -syn – отрицательная корреляция содержания MHPG и соотношения MHPG/ NA во ФК со средней длиной шага передних лап, но достоверная положительная корреляция MHPG/NA с величиной первого шага правой передней лапы ($p < 0.05$). Таким образом, в результате исследования показано, что спустя три месяца после хронического интраназального введения олигомеров α -syn у мышей наблюдаются признаки нарушения походки, изменения содержания DA, NA, 5HT и их метаболитов в мозжечке и фронтальной коре, а также изменения корреляционных связей между активностью моноаминергической

системой и параметрами походки. Полученные результаты представляют существенный интерес для развития трансляционных моделей двигательных нарушений при БП и других видах синуклеинопатий.

ИЗМЕНЕНИЕ ФОНОВОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС В ОТВЕТ НА ХОЛИЦИСТОКИНИН ПРИ СТАРЕНИИ

Моисеев К.Ю., Спиричев А.А., Тарасова Г.А.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Гипоталамус является жизненно важным мозговым центром, который участвует в объединении эндокринной и нервной систем для осуществления многих важных регуляторных функций и поддержания гомеостаза. Дорсомедиальное (ДМЯ) ядро гипоталамуса играет важную роль в регуляции метаболических процессов и пищевых циркадных ритмов, получая информацию от дугообразного ядра. Кроме того, интегрируя информацию от супраоптического ядра и периферических органов, гипоталамус модулирует различные поведенческие и физиологические ритмы, контроль времени кормления, двигательной активности, секреции кортикостерона и циклов сна-бодрствования.

Современные исследования имеют малый объем данных об изменении активности ядер гипоталамуса в покое и в ответ на введение холецистокинина (ХЦК) в зависимости от возраста организма. Поэтому целью данной работы являлось осуществление анализа фоновой и вызванной введением ХЦК (в дозировке 20 мкг/кг в/в) импульсной электрической активности отдельных нейронов в дорсомедиальном ядре гипоталамуса у самцов молодых (2 – 3 месяца), взрослых (1 – 1,5 год) и старых (2 – 2,5 года) крыс.

Исследование проводилось с соблюдением основных биоэтических правил. Задействовано три возрастные категории крыс: 17 крыс (молодые), 19 крыс (взрослые) и 21 крыса (старые). Запись спайковой активности отдельных нейронов ДМЯ осуществлялась электрофизиологически внеклеточно при помощи стереотаксически вводимых вольфрамовых микроэлектродов с использованием усилителя переменного тока, данные оцифровывались с частотой 20 кГц преобразователем CED Micro 1401-3 под управлением программы Spike 2.

Наблюдался нерегулярный характер импульсной активности нейронов дорсомедиального ядра у всех животных, включая взрослых и старых. При этом выделялись периоды относительно стабильной активности, чередующиеся с паузами. У молодых и старых крыс примерно половина нейронов во время стабильной активности разряжалась ритмично и с постоянной частотой.

Средняя частота фоновой импульсации в дорсомедиальном ядре молодых крыс составляла 2,9 Гц, которая при введении ХЦК снижалась до 1,9 Гц (различия достоверны по сравнению с фоновой частотой). У старых крыс средняя фоновая частота разрядов нейронов гипоталамуса была достоверно ниже по сравнению со взрослыми крысами, составляя $1,9 \pm 0,3$ Гц ($p < 0,01$). При введении ХЦК у старых крыс средняя частота импульсации также достоверно снижалась по сравнению с фоновой до 0,9 Гц ($p < 0,05$).

Таким образом, введение ХЦК приводило к снижению электрической активности нейронов ДМЯ гипоталамуса у молодых и старых крыс. При старении происходит уменьшение частоты импульсации в нейронах ДМЯ гипоталамуса. Данные функциональные изменения коррелируют с ранее установленными нами нейрохимическими изменениями нейронов ядра при старении. Снижение электрической активности нейронов гипоталамуса может приводить к функциональным изменениям, снижению выделения нейротрансмиттеров и возрастному повышению порога чувствительности гипоталамуса к регулируемым сигналам.

Работа поддержана Российским научным фондом, грант 19-15-00039.

ВЛИЯНИЕ МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ КООРДИНАЦИЮ, СИЛУ МЫШЦ И УРОВЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ ПРИ ДИСБИОЗЕ У МЫШЕЙ

А.И. Муллакаева, А.Ф. Салихзянова, О.В. Яковлева, Г.Ф. Ситдикова

Казанский Приволжский Федеральный университет, Казань, Россия

Согласно современным представлениям состав и разнообразие кишечной микробиоты играют существенную роль в поддержании иммунитета, гомеостаза, и в целом физиологических функций организма хозяина (Nay et al., 2019). В последние годы появились сообщения о позитивной роли микробиоты и ее метаболитов, особенно короткоцепочечных жирных кислот, в метаболизме и функциональной активности скелетных мышц (Lustgarten, 2019). Целью нашей работы было проанализировать силу мышц и координацию движений у мышей после инъекции курса антибиотиков широкого спектра действия с одновременным введением метаболита микробиоты – одного из представителей короткоцепочечных жирных кислот – масляной кислоты. Кроме того, мы определили уровень малонового диальдегида (МДА), концентрацию общего глутатиона и активность глутатион пероксидаз в мышцах задних конечностей у мышей с введением антибиотиков и масляной кислоты.

Введение коктейля антибиотиков 25 дневным мышам в течение двух недель приводило к более высокой смертности и снижению прибавки в весе. Коктейль антибиотиков для инъекций был приготовлен в растворе 0.9% NaCl и содержал следующие антибиотики: неомицин, ванкомицин, амфотерицин В, ампициллин, метронидазол [Arslanova et al., 2021]. Также происходили значительные изменения в двигательном поведении животных, включая повышение горизонтальной двигательной активности, снижение вертикальной двигательной активности в тесте Открытое поле, мышечной силы, координации движений в тестах Сила хвата и Ротарод. Для оценки степени окислительного стресса у мышей измеряли уровень МДА и общего глутатиона в тканях мышц задних конечностей. Был обнаружен высокий уровень окислительного стресса и снижение концентрации общего глутатиона в тканях мышц задних конечностей мышей, получавших антибиотики.

Пероральное введение препарата масляной кислоты – «Закофальк» 7 мг/кг предотвращало наблюдаемые изменения и улучшало не только поведенческие нарушения, но и частично снижало уровень окислительного стресса в тканях.

Таким образом, использование метаболитов нормальной микробиоты оказывает позитивное влияние на функциональные и биохимические показатели скелетных мышц при дисбиозе, что может быть использовано для предотвращения потери мышечной функции при различных патологических состояниях.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-25-20045).

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ БЛОКАТОРА NO-СИНТАЗЫ L-NAME И ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ НА ВЫРАБОТКУ УСЛОВНОГО ОБОРОНИТЕЛЬНОГО РЕФЛЕКСА НА ПОСТУКИВАНИЕ ПО РАКОВИНЕ И УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА АВЕРЗИИ НА ПИЩУ У ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ

Муранова Л.Н., Федоров Д.Г., Богодвид Т.Х., Андрианов В.В., Гайнутдинов Х.Л.

Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия

В организме человека и животных практически во всех органах и тканях ферментативным путем непрерывно продуцируется простейшее химическое соединение – оксид азота (NO).

NO является одним из наиболее важных посредников, который участвует в функционировании разнообразных систем организма. У моллюсков, как и у млекопитающих, NO играет роль межклеточного мессенджера и сигнальной молекулы в различных отделах нервной системы, кроме того, недавно стало известно, что NO необходим как для обучения, так и для стирания памяти. Участие NO в синаптической пластичности наиболее ярко проявляется в таких процессах, как долговременная потенциация и депрессия. Поэтому было интересно посмотреть влияние NO на разные формы обучения.

В данной работе был проведен сравнительный анализ формирования условного оборонительного рефлекса на постукивание по раковине и на аверсию к пище у виноградной улитки. Эксперименты проводились на наземном брюхоном легочном моллюске *Helix lucorum*, (*Gastropoda, Pulmonata*) крымской популяции. Эти животные обладают относительно простой нервной системой при достаточно разнообразном поведении. Перед началом экспериментов моллюски не менее 2-х недель находились в активном состоянии во влажной атмосфере, при комнатной температуре и избытке пищи. Были исследованы воздействия экзогенного источника или донора NO нитропрусида натрия и неспецифического блокатора нейрональной NO-синтазы L-NAME на выработку условных оборонительных рефлексов у виноградной улитки. В работе были использованы растворы фармакологических препаратов: L-NAME (L-N^G-nitro L-arginine methyl ester, Sigma, USA) в дозе 100 мг/кг веса животного, нитропруssid натрия (sodium nitroprusside, Sigma, USA) в дозе 500 мкг/кг веса. Блокатор NO-синтазы L-NAME, донор NO нитропруssid натрия (растворенных в физиологическом растворе) вводили виноградным улиткам ежедневно за 30 мин до начала сеанса выработки рефлекса (в объеме 0,1 мл) в область синусного узла. Контролем служили улитки, которым вводили ФР (0.1 мл) в те же сроки, что и в опытных сериях

В ходе экспериментов было найдено, что хроническое введение экзогенного донора NO нитропрусида натрия ускоряет выработку условного оборонительного рефлекса аверсии на пищу у виноградных улиток по сравнению с животными, которым вводили ФР. Ежедневное введение неспецифического блокатора нейрональной NO-синтазы L-NAME перед формированием условного оборонительного рефлекса аверсии на пищу, наоборот, замедляло обучение виноградных улиток по сравнению с контрольной группой. Аналогичные результаты были получены и при формировании условного оборонительного рефлекса на постукивание по раковине. Было получено, что блокирование NO-синтазы L-NAME перед выработкой условного оборонительного рефлекса на постукивание по раковине замедляет скорость обучения виноградных улиток по сравнению с контрольной группой. В то же время введение донора NO нитропрусида натрия, наоборот, ускоряют обучение виноградных улиток по сравнению с контрольными животными. Полученные результаты свидетельствуют, что в исследованном нами виде обучения оксид азота модулирует процесс формирования условного оборонительного рефлекса.

Работа поддержана Программой стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ИНДУЦИРОВАННЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ FUS-ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

Нагиев К.К., Хабибрахманов А.Н., к.б.н. Гомзикова М.О., д.б.н. Салафутдинов И.И., д.м.н., проф. Мухамедьяров М.А.

Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия; Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – быстро прогрессирующее неизлечимое нейродегенеративное заболевание, в результате которого происходит гибель преимущественно центральных и периферических мотонейронов, ответственных за произвольные движения. В настоящий момент не разработаны эффективные методы лечения БАС. Перспективным подходом к лечению БАС являются современные бесклеточные технологии, основанные на применении микровезикул. Микровезикулы – это мембранные структуры различного размера (100 – 1000 нм), отделяющиеся от цитоплазматической мембраны клеток и несущие рецепторы и растворимые биомолекулы клетки-продуцента. Микровезикулы, полученные из мезенхимных стволовых клеток (МСК), демонстрируют противовоспалительные и нейропротективные свойства, в том числе моделях нейродегенеративных заболеваний. Применение микровезикул имеет преимущества в сравнении с клеточной терапией: отсутствие онкогенности, хорошая проницаемость через гематоэнцефалический барьер, устойчивость к разрушению ферментами плазмы крови.

Целью исследования являлась оценка эффективности терапии индуцированными микровезикулами (ИМВ) из мезенхимальных стволовых клеток (МСК) человека у FUS-трансгенных мышей с моделью БАС.

Исследование проводилось на линии трансгенной линии мышей с эктопной нейроспецифической экспрессией укороченного гена FUS человека на генетическом фоне CD1 с соблюдением основных биоэтических правил. Были сформированы следующие группы мышей: мыши дикого типа (n=10) (WT-мыши); трансгенные FUS-мыши, не получающие терапию (n=15) (FUS-мыши); трансгенные FUS-мыши с введением микровезикул из 1 млн. нативных MSC (n=11) (FUS-MV-мыши). Исследовались выживаемость мышей, динамика изменения массы тела, вертикальная, горизонтальная и исследовательская активность в тесте «Открытое поле», сила хвата в тесте «Грип-тест», проводилась оценка наличия и выраженности клинической симптоматики путем визуального наблюдения за мышами, а также выполнения хвостового теста. Препарат микровезикул вводился трансгенным мышам с моделью БАС ретроорбитально в возрасте 3 месяцев.

Гибель FUS-мышей начала регистрироваться в 4-месячном возрасте. В 5-месячном возрасте количество выживших FUS-мышей составило менее 60% от исходного количества мышей в группе. У FUS-мышей, получивших трансплантацию микровезикул, выживаемость была на достоверно более высоком уровне. На 37-й день с момента введения микровезикул выживаемость FUS-мышей, получивших трансплантацию микровезикул, составила 90,9%, тогда как у интактных FUS-мышей – 60%. На 48-й день с момента введения микровезикул выживаемость FUS-мышей, получивших трансплантацию микровезикул сохранилась на уровне 90,9%, а у интактных FUS-мышей составила 46,7%.

Таким образом трансплантация ИМВ из MSC человека улучшает выживаемость трансгенных FUS-мышей с моделью БАС, а также улучшает некоторые другие поведенческие показатели. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение ИМВ из MSC человека является перспективным подходом в терапии БАС в модели на животных.

Работа выполнена при поддержке гранта Казанского ГМУ №1/22-3 от 13.07.2022 г.

ФОРМИРОВАНИЕ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ РАСТВОРА ГЛУТАМАТА НАТРИЯ.

Назарова Г.А., Богданова Н.Г., Судаков С.К.

*ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАН,
Москва, Россия*

Глутамат натрия (MSG) реализует разнообразные физиологические функции в организме и является широко используемым усилителем вкуса, полученным из L-глутаминовой кислоты, естественной аминокислоты различных пищевых продуктов. Глутамат натрия обладает специфическим вкусом *умами*, который считается одним из основных пяти вкусов, наряду с соленым, горьким, кислым и сладким вкусами.

Целью настоящего исследования явилось изучение формирования депрессивно-подобного поведения у самцов крыс после хронического употребления 60 мМ (1,1%) раствора глутамата натрия.

Эксперименты проводились в соответствии с требованиями приказа №267 МЗ РФ (19.06.2003 г.), а также в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Учреждение Российской Академии медицинских наук НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, протокол № 1 от 03.09.2005 г.).

Исследование проводилось в течение 30 дней на крысах-самцах линии Вистар. Вода в одной из двух поилок у крыс контрольной и экспериментальной групп была постоянно в доступе. У животных контрольной группы вода находилась в обеих поилках. В экспериментальной группе крысам в одной поилке предоставлялась вода, а во второй поилке – 60 мМ (1,1%) раствор глутамата натрия. Корм был в свободном доступе.

На 10-й день эксперимента проводилось тестирование формирования депрессивно-подобного поведения у крыс в ситуации «неизбегаемого плавания» по методике Порсолта.

На 20-й день эксперимента проводилось тестирование формирования депрессивно-подобного поведения в ситуации подвешивания за хвост по методике Ворониной.

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что у самцов линии Wistar после употребления раствора глутамата натрия наблюдалось развитие депрессивно-подобного поведения. При проведении теста «принудительного плавания» было зафиксировано достоверное уменьшение длительности периода активного плавания у крыс экспериментальной группы. При этом длительности периода пассивного плавания, иммобилизации и индекс депрессивности в группе с глутаматом натрия, напротив, достоверно были увеличены.

При проведении теста «подвешивания за хвост» были получены данные, свидетельствующие об уменьшении периода активного движения у крыс, получавших раствор глутамата натрия. Помимо этого, в данной группе было зафиксировано увеличение общего времени периодов иммобилизации. При проведении теста «подвешивания за хвост» был посчитан ритмологический индекс депрессивности. Было обнаружено достоверное увеличение данного показателя в группе крыс, получавших раствор глутамата натрия.

Проведенные эксперименты позволили продемонстрировать финальный этап действия пищевого глутамата натрия – изменение поведенческой активности, а именно формирование депрессивно-подобного поведения. Дальнейшее изучение метаболических путей пищевого глутамата становится мишенью исследования патогенеза депрессии и механизма его реализации.

Исследование было выполнено без привлечения дополнительного финансирования.

ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ФИЗИЧЕСКАЯ ВЫНОСЛИВОСТЬ ПОСЛЕ ГИПОВЕНТИЛЯЦИОННОЙ И ДВИГАТЕЛЬНОЙ НАГРУЗОК У КРЫС

Никенина Е.В., Абрамова А.Ю., Перцов С.С.

ФГБНУ «НИИНФ им. П.К. Анохина», Москва, Россия

Несмотря на значительный интерес к исследованию влияния гипоксического воздействия на адаптационные механизмы, многие вопросы в этой области остаются нерешенными. Более того, отсутствуют сведения о характере влияния гиповентиляционных нагрузок на основные метаболические характеристики и физическую работоспособность у млекопитающих в условиях регулярных физических тренировок. Цель данной работы – изучение влияния гиповентиляционной нагрузки с последующей физической тренировкой на показатели интенсивности метаболизма и уровень физической выносливости у крыс.

Исследования выполнены на 32 крысах-самцах Вистар (масса тела – 230 ± 10 г). При проведении опытов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными на заседании этической комиссии НИИ НФ им. П.К. Анохина (протокол №1 от 3.09.2005). Были сформированы 4 группы по 8 особей. Интактные животные 1-й группы служили контролем при изменении метаболических показателей. Экспериментальные группы подвергались соответствующим процедурам ежедневно в течение 7 дней: 2-я группа – физическая нагрузка (плавание в воде при температуре $+20 - 22^\circ\text{C}$ в течение 1-й минуты); 3-я группа – 60 минутное гиповентиляционное воздействие; 4-я группа – физическая нагрузка сразу после гиповентиляционного воздействия. Условия гиповентиляции обеспечивали в автоматизированной модульной установке Phenomaster (TSE Systems GmbH). Данный комплекс позволяет снижать подачу атмосферного воздуха со стандартной скорости 5 л/мин до 0,06 л/мин. Объем потребления O_2 , выделения CO_2 и уровень теплопродукции оценивали в течение 1 часа на 7-й день экспериментов с помощью указанной выше установки до воздействия физической нагрузки. Для оценки физической выносливости животных подвергали принудительному плаванию до отказа в воде комнатной температуры. Уровень лактата в крови и физическую выносливость определяли в исходном состоянии и по окончании исследования. Статистическую значимость различий между показателями оценивали с помощью теста согласованных пар Вилкоксона и U-критерия Манна-Уитни (Statistica 10.0).

Было выявлено увеличение времени плавания на 7-е сутки исследования у животных после недели регулярной физической нагрузкой и у крыс с сочетанным воздействием гиповентиляции и физической нагрузки по сравнению с исходными показателями ($p < 0,05$). Установлено снижение уровня лактата в крови по сравнению с исходными показателями ($p < 0,05$) на 7-е сутки у особей с физической нагрузкой в условиях гиповентиляции. Обнаружено статистически значимое уменьшение потребления O_2 , выделения CO_2 и уровня тепловыделения как у животных с гиповентиляцией ($p < 0,05$), так и у крыс, подвергнутых физической тренировке после гиповентиляционного воздействия ($p < 0,01$) по сравнению с интактными особями на 7-е сутки.

Таким образом, регулярные физические тренировки и сочетанные воздействия гиповентиляционной и физической нагрузок оказывают влияние на физическую выносливость у крыс. Сочетание гиповентиляционной и физической нагрузок приводит к снижению уровня лактата в крови и не оказывает выраженного влияния на объем потребления O_2 , выделения CO_2 и интенсивность теплопродукции. Это может быть связано с особенностями реализации адаптационных процессов в организме при экстремальных внешних воздействиях.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ: МОДЕЛИ НА ДРОЗОФИЛЕ

Никитина Е.А.^{1,2}, Медведева А.В.¹, Заломаяева Е.С.^{1,2}, Васильева С.А.², Каровецкая Д.М.^{1,2},
Реброва А.В.², Егозова Е.С.², Щеголев Б.Ф.¹, Савватеева-Попова Е.В.¹

¹ – *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

² – *Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

Все организмы сталкиваются с необходимостью приспособления к факторам окружающей среды. Важнейшими факторами являются освещение, электромагнитное поле Земли, содержание кислорода, температура. Каждый из них при значительных колебаниях оказывается стрессорирующим воздействием, а также влияет на поведение и когнитивные функции. Поиск общих механизмов, связывающих когнитивные функции и реакцию на стрессорное воздействие, приводит к пониманию значимости механизма формирования суточных ритмов. Одним из важнейших регуляторов этой системы являются криптохромы (CRY). С суточными ритмами неразрывно связано геомагнитное поле. Суточные вариации геомагнитного поля возникают за счет токов в ионосфере Земли, вызванных изменениями освещенности земной ионосферы Солнцем. Нами для выявления внутриклеточных мишеней действия магнитного поля было предпринято изучение влияния ослабленного статического магнитного поля (ОСМП) в камере, ослабляющей магнитное поле Земли в 35 раз с привлечением мутантной линии дрозофилы *agn^{ts3}*, характеризующейся повреждением гена LIM-киназы 1. Способность к обучению и формированию среднесрочной памяти самцов оценивали в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания. Воздействие ОСМП восстанавливает когнитивные функции *agn^{ts3}* в отличие от контрольной линии дикого типа *CS*, у которой нарушается формирование 3-часовой памяти. Было проведено изучение роли подавления уровня LIMK1 дофаминовых и серотониновых нейронов в формировании стрессорной реакции на ОСМП. Анализ иммуногистохимических данных показал наличие межлинейных различий по частоте двухцепочечных разрывов (ДЦР) ДНК и увеличение уровня ДЦР после ОСМП. Гены циркадного ритма (*CRY1* и *CRY2*) вовлечены в узнавание и репарацию повреждений ДНК. Циркадные часы тесно связаны с гипоксическим сигнальным путем. Немаловажным аспектом влияния магнитного поля является его протекторный эффект при развитии оксидативного стресса и гипоксии. Регуляция CRY транскрипции генов, контролирующей циркадные ритмы через гетеродимер CLOCK/BMAL1, распространяет эффекты магнитного поля на экспрессию ключевого транскрипционного регулятора адаптации к кислородному голоданию – HIF1. Был изучен характер вызванных гипоксией перестроек хромосом в нервных ганглиях личинок. При гипоксическом воздействии наблюдается двукратное увеличение профиля отстающих хромосом у *agn^{ts3}* по сравнению с контрольной линией. Связь суточных ритмов с содержанием кислорода опосредуется у дрозофилы динамикой актинового цитоскелета и формированием ДЦР, что сказывается на когнитивных функциях. Согласно нашим исследованиям, при обучении в условиях гипоксии у мух достоверно подавляются элементы ухаживания по сравнению с контрольной линией. Являясь пойкилотермным организмом, дрозофила зависит от колебания температуры. Нами показано, что мутация *agn^{ts3}* при перmissive температуре нарушает обучение и память, при воздействии теплового шока эти показатели восстанавливаются до уровня дикого типа. Все четыре фактора внешней среды – освещение, геомагнитное поле, температура, давление-содержание кислорода оказались связаны между собой не только общим сенсором – CRY, выполняющим функции синхронизатора часовых ритмов, температуры, гипоксии, но и общей мишенью – динамикой актинового цитоскелета.

Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019 – 2030) (тема 63.1).

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА LIN28 В НЕЙРОНАХ ЯДЕР ТУБЕРАЛЬНОГО ГИПОТАЛАМУСА В ОНТОГЕНЕЗЕ САМЦОВ КРЫС

Панкрасова Л.Г., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Метаболический синдром, как комплекс нарушений обмена веществ, может выступать в качестве признака старения. Важнейший интегратор вегетативных, эндокринных и поведенческих функций в лице гипоталамуса, по современным представлениям, занимает далеко не последнее место в регуляции продолжительности жизни. Ядра туберальной области гипоталамуса – дорсомедиальное (ДМЯ), вентромедиальное (ВМЯ), аркуатное (АРЯ) – активно вовлечены в регуляцию обмена веществ, энергетического баланса и, по данным литературы, в контроль развития процессов старения. Lin28 представляет собой высоко консервативный РНК-связывающий белок, выступающий в качестве регулятора нескольких основных клеточных функций, включая дифференцировку, развитие и метаболизм. Однако его основной задачей остается ингибирование микроРНК let-7, существенно влияющую на системный энергетический гомеостаз, в том числе регуляцию метаболизма глюкозы через сайленсинг генов, имеющих отношение к реализации пути инсулинового сигналинга. Так или иначе, литературных данных об изменении экспрессии Lin28 при старении нет. Целью настоящей работы послужило определение локализации, процентного содержания Lin28-иммунореактивных нейронов (Lin28-ИР), а также нейронов, колокализующих Lin28 с компонентами сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в ядрах туберальной области гипоталамуса у самцов крыс разных возрастных групп.

Эксперименты проводились с использованием основных биоэтических правил на 2-, 6-, 12- и 24-месячных самцах крыс линии Wistar (n=20) иммуногистохимическим методом. Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения Sigma Plot 12. Различия оценивали с применением одностороннего дисперсионного анализа ANOVA. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты показали наличие Lin28-ИР нейронов в ВМЯ всех исследуемых групп крыс. Процент Lin28-ИР нейронов ядра существенно увеличился с $37 \pm 4,7$ у 2-месячной крысы до $76 \pm 4,6$ у 6-месячной ($p < 0,01$) и заметно снизился позже до $41 \pm 7,3$ у 12-месячной ($p < 0,05$ по сравнению с 6-месячной) и $28 \pm 5,5$ у 24-месячной крысы ($p > 0,05$ между 12 и 24-месячными). Существенное количество Lin28-ИР нейронов ВМЯ локализовали компоненты передачи сигнального пути инсулина, включая mTOR, RAPTOR, PI3K и Akt1. Процент Lin28/Akt1-ИР нейронов был максимальным у 6-месячных ($92 \pm 1,0$) и 12-месячных ($93 \pm 1,3$) крыс по сравнению с 2-месячными ($55 \pm 0,9$) и 24-месячными ($82 \pm 2,1$) животными ($p < 0,05$). Доля Lin28/PI3K-ИР нейронов значительно увеличилась с $77 \pm 1,2$ у 2-месячных крыс до $86 \pm 1,0$ у 6-месячных крыс ($p < 0,05$) и впоследствии до 96 – 99% у 12-месячных и 24-месячных крыс. Почти все Lin28-ИР нейроны (96 – 99%) локализовали mTOR и компонент 1 комплекса (mTORC1) RAPTOR без статистически значимых различий во всех изученных возрастных группах ($p > 0,05$).

Таким образом, мы наблюдали возрастные изменения нейрохимических параметров в ВМЯ. Перспективы дальнейшего исследования заключаются в обнаружении молекулярных механизмов изменения экспрессии Lin28 и компонентов сигнального пути PI3K/AKT/mTOR.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-15-00039).

РАЗВИТИЕ ТЕОРИЙ ОРГАНИЗАЦИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В.А. Переверзев, Л.А. Давыдова

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь*

Аннотация: Авторами проведен анализ развития теорий организации нервной системы. Нервная система построена из нервной ткани, которая состоит из нервных клеток (нейронов) и нейроглии. Нервные клетки выполняют специфическую функцию: получают, обрабатывают и передают информацию, закодированную в виде электрических и химических сигналов. Нейроглия играет вспомогательную роль, осуществляя опорную, трофическую, секреторную, разграничительную и защитную функции.

В конце XIX – начале XX веков существовало две гипотезы о строении нервной системы – теория сети (ретикулярная) и нейронная теория.

В 1871 г. наиболее распространенным взглядом на организацию нервной системы была **ретикулярная теория**, разработанная и предложенная немецким гистологом и анатомом Йозефом фон Герлахом (1820 – 1896). Этой теории придерживался итальянский ученый К. Гольджи (1843 – 1926). Согласно ретикулярной теории, нервная ткань представляет собой своеобразный синцитий, в котором клетки фактически лишены индивидуальности, так как их отростки связаны между собой, переходят один в другой, в результате чего формируется непрерывная диффузная сеть «rete nervosa diffusa». Камилло Гольджи предположил, что главными функциональными центрами нервной системы являются не нейроны, а «диффузные нервные сети», которые служат механизмом для соединения различных частей нервной системы. Ретикулярная теория преобладала до 1890-х годов.

Нейронная теория – клеточная теория строения нервной системы сформировалась в конце XIX в. благодаря работам ряда ученых того времени, особенно рьяно представлял нейронную теорию испанский гистолог Сантьяго Рамон-и-Кахаль. Согласно нейронной теории основной структурно-функциональной и генетической единицей нервной системы является нейрон, который имеет тело и отростки: дендриты и аксон. К концу XIX века эта теория была наиболее принятой для объяснения организации нервной системы. Рамон-и-Кахаль выдвинул свою доктрину нейронов о синаптических соединениях, которая, по существу, заменила ретикулярную теорию. Нейронная теория стала общепринятой, но с некоторыми сомнениями, вплоть до середины XX века.

Благодаря уникальным и убедительным препаратам знаменитого русского нейрогистолога, профессора А.С. Догеля было доказано, что цитоплазматическая связь нейронов не случайность, а закон. А.С. Догелю впервые удалось доказать синцитиальную цитоплазматическую связь тел и отростков в системе нейронов. Впервые им были получены бесспорные картины тонких паутинообразных нервных сетей, подтверждающих возможность синцитиальной связи в нервной системе и доказательств ретикулярной теории.

Сотрудники Лаборатории функциональной морфологии и физиологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН под руководством профессора О.С. Сотникова в ходе проведения прижизненных исследований доказали возможность синцитиального слияния нервных отростков и формирование элементов нервного ретикулума. На живых нейронах экспериментально ученые показали одновременное перемещение аксоплазмы в противоположных направлениях и равномерное увеличение объема тел нейронов. Показано, что аксоплазма – не жидкость, а сократимый гель, который, сокращаясь, сближает клетки, вплоть до их слияния.

Таким образом, ретикулярная концепция расширяет и углубляет нейронную теорию. Поэтому две теории не следует разделять, так как они дополняют друг друга. По мнению профессора О.С. Сотникова целесообразно признать **объединенную нейронно-ретикулярную теорию** организации нервной системы.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В УСЛОВИЯХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗНЫХ РЕЖИМОВ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Перцов С.С.^{1,2}, Абрамова А.Ю.^{1,2}, Симаков А.Б.³, Водохлебов И.Н.³

¹ – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия; ² – ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, Москва, Россия; ³ – ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

Одной из актуальных проблем медико-биологической науки является выяснение характера влияния источников естественного и искусственного электромагнитного излучения (ЭМИ) на физиологические функции человека. Это связано с широким распространением устройств сотовой связи и бытовых приборов-источников СВЧ-излучения, неблагоприятной эколого-геофизической обстановкой во многих регионах и другими причинами.

В опытах на крысах, выполненных с соблюдением биоэтических правил, исследован характер влияния ЭМИ в разных режимах на физиологические показатели – интенсивность метаболизма и поведенческую активность (Phenomaster, TSE Systems GmbH). Использовали установку для оценки влияния слабых кодированных электромагнитных полей на биообъекты DEMI; частота СВЧ-излучения – 900 МГц. Режимы: однократное длительное (23 ч; уровень излучения в клетке 70 – 130 мкВт/см²)/повторяющееся (6-кратно по 2 ч, уровень излучения в клетке 8 – 17 мкВт/см²); немодулированное/модулированное (период следования паттернов 150 мс, количество импульсов в паттерне – 3, длительность – 50 мс, коэффициент заполнения импульсов в паттерне – 0,98). Часть опытов проведена на крысах после 24-ч иммобилизации с последующим многократным воздействием немодулированным или модулированным ЭМИ.

Установлено, что однократное длительное СВЧ-облучение не оказывает значимого влияния на показатели поведения и обмена веществ у животных. Воздействие низкоинтенсивного ЭМИ с модуляцией частотами, типичными для оборонительного поведения, приводит к снижению интенсивности метаболизма.

Выявлено, что период развития наиболее значимых колебаний показателей метаболизма в динамике многократного СВЧ-излучения не совпадает по времени со стадией формирования достоверных изменений пищевого поведения и двигательной активности животных. Кроме того, данные параметры в этих условиях изменяются разнонаправленно: показатели обменных реакций возрастают, а поведенческая активность снижается. Таким образом, ЭМИ СВЧ-диапазона у животных приводит к изменениям интенсивности обменных процессов и параметров поведения, степень и направленность которых отличается в зависимости от временной стадии многократного облучения.

Обнаружено, что ЭМИ с модуляцией частотами, характерными для оборонительного поведения, приводит в целом к подавлению обменных процессов, наиболее значимым при многократно повторяющемся облучении и сохраняющимся даже в состоянии покоя.

Показано, что однократная стрессорная нагрузка приводит к интенсификации обмена веществ, наблюдающейся даже в отдаленный период после облучения, но практически не влияет на параметры поведения крыс. Многократное воздействие ЭМИ СВЧ-диапазона полностью предупреждает активацию обменных процессов после экспериментального стресса. Повторное СВЧ-облучение с модуляцией частотами, характерными для состояния «физиологической нормы», препятствует постстрессорному увеличению метаболических показателей избирательно на поздних стадиях после эмоциогенной нагрузки.

Следовательно, характер влияния ЭМИ на поведенческие и метаболические показатели у млекопитающих во многом определяется видом, интенсивностью и частотой излучения, периодом экспозиции, временем проведения измерений и другими факторами. Ответная

реакция на воздействие низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ-диапазона зависит от наличия или отсутствия модулирующих частотных сигналов, а также от исходного состояния организма.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 16-19-00167.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ СЕДАЛИЩНОГО НЕРВА КРЫСЫ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И ВВЕДЕНИЯ МСК

Петрова Е.С., Колос Е.А., Коржевский Д.Э.

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность проблемы восстановления периферических нервных проводников после травмы объясняется недостатком знаний о молекулярных и клеточных механизмах регуляции процессов дегенерации и регенерации нервных волокон. Периферические нервы имеют большие потенции к регенерации, однако полного и быстрого их функционального восстановления с помощью традиционных хирургических методов (совершенствование шовной техники и методов нейропластики) удается достичь не всегда. Это связано с тем, что после травмы нерва может формироваться рубец, препятствующий росту регенерирующих аксонов, может возникать неврома, а при длительном отсутствии нейротрофического влияния аксонов в тканях-мишенях могут происходить необратимые изменения. Для ускорения роста регенерирующих нервных волокон применяют электростимуляцию, магнитное излучение, лекарственные препараты и др. способы. В экспериментальных исследованиях активно разрабатываются различные методы генной и клеточной терапии. Молекулярно-клеточные механизмы влияния экзогенных стволовых клеток на репаративные процессы в поврежденных тканях остаются малоизученными. Недостаточно исследовано влияние трансплантации стволовых клеток на репаративные процессы, происходящие в поврежденных нервах. Целью настоящей работы явилось изучение структурных изменений в седалищном нерве крысы после повреждения и введения МСК с применением иммуногистохимических методов исследования. Работа выполнена на крысах линии Вистар-Киото массой 200 – 250 г. ($n=25$) с учетом международных правил Европейской декларации о гуманном обращении с животными и одобрена ЛЭК ИЭМ (протокол № 2/22 от 06.04.2022).

Повреждение седалищного нерва осуществляли путем наложения лигатуры (40 с). МСК костного мозга крыс Вистар-Киото, предоставленные Банком стволовых клеток ООО «Транс-Технологии» (СПб), вводили субперинеурально в один из нервных стволов седалищного нерва половине животных (5×10^4 клеток в 5 мкл среды). Контрольной группе крыс вводили среду в том же объеме. МСК предварительно метили BrdU. В разные сроки после операции фрагменты нервов фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида. На парафиновых срезах толщиной 5 мкм проводили иммуногистохимические реакции на маркер плотных клеточных контактов клаудин-1 (для выявления периневрия), белок промежуточных филаментов периферин (для идентификации осевых цилиндров регенерирующих аксонов), маркер эндотелиоцитов фактор Виллебранда (для изучения кровеносных микрососудов эндоневрия). Показано, что через 5 – 7 суток после операции отдельные BrdU⁺ МСК обнаруживаются в толще нерва, а также в его эпинеуральной и перинеуральной оболочках. В более поздние сроки МСК не идентифицировались. После воздействия экзогенных МСК установлены следующие структурные изменения в нерве реципиента: 1. Через 60 сут после операции средняя толщина периферин-содержащих регенерирующих нервных волокон в дистальном сегменте поврежденного нерва превосходила контроль (лигатура без введения МСК); 2. Число микрососудов на единицу площади эндоневрия у подопытных крыс была выше, чем у контрольных животных почти в полтора раза. 3. Толщина перинеуральной и

эпинеуральной оболочек увеличивалась у животных, подвергшихся клеточной терапии. 4. Отмечено снижение количества тучных клеток в эндоневрии дистального сегмента нерва после повреждения и введения МСК. Для объяснения полученных результатов и уточнения механизмов влияния одноразового введения МСК на репаративные процессы в поврежденном нерве необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение изменений процессов валлеровской дегенерации в нерве реципиента в ранние сроки после повреждения и применения клеточной терапии.

АКТИВНОСТЬ NADPH-ДИАФОРАЗЫ В НЕЙРОНАХ ДОРСОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА У САМЦОВ КРЫС ПРИ СТАРЕНИИ

Порсева В.В., Вишнякова П.А., Панкрасова Л.Г., Спиричев А.А., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Старение организма сопровождается морфофункциональными изменениями клеток и формированием возрастной патологии, что связывают с ослаблением регулирующих влияний гипоталамуса. Дорсомедиальное ядро (ДМЯ) гипоталамуса является интегратором циркадной регуляции приема пищи, питья, секреции кортикостерона, двигательной активности и бодрствования,

Цель исследования состояла в изучении морфометрических характеристик нейронов ДМЯ гипоталамуса, содержащих NADPH-диафорузу у взрослых и старых самцов крыс.

Морфометрические особенности нейронов с NADPH-диафоразой (NADPH-д) изучали в ДМЯ на криостатных срезах толщиной 12 мкм, гистохимическим методом у самцов крыс Вистар в возрасте 3 мес (n=5) и 24 мес (n=5). Для оценки структур ДМЯ использовали стереотаксический атлас мозга крысы по G. Paxinos, C. Watson (2013). Анализ препаратов проводили на микроскопе Олимпус ВХ43 (Япония) методом световой микроскопии. На цифровых изображениях срезов с помощью программы Image J (НИН, США) определяли площадь сечения позитивных нервных клеток и проводили их подсчет в границах изучаемого ядра. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011).

Результаты показали, что у взрослых и старых крыс в области ядра выявлялись NADPH-д-позитивные нейроны. Продукт реакции равномерно распределялся в цитоплазме клеток и имел темно-синий цвет, ядро оставалось не прокрашенным, у единичных нейронов окрашивались только проксимальные части отростков. Подсчет нейронов показал, что у старых животных количество позитивных клеток значительно увеличивалось по сравнению с показателем молодых крыс на 21% и составило 33.17 ± 0.38 . Анализ средней площади сечения NADPH-д-нейронов ДМЯ показал, что у молодых и старых крыс размеры позитивных нейронов не превышали 100 мкм^2 . Однако, размеры нейронов с NADPH-д у старых крыс ($86.01 \pm 2.71 \text{ мкм}^2$) значительно увеличивались по сравнению с таковыми у молодых крыс на 15%.

Таким образом, старение сопровождается увеличением ферментативной активности в нейронах ДМЯ у самцов крыс, определяемой по содержанию NADPH-диафоразы.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда, проект № 19-15-00039.

ВЛИЯНИЕ КАПСАИЦИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ПАРВАЛЬБУМИНА В СПИНАЛЬНЫХ НЕЙРОНАХ У МЫШЕЙ C57BL/6

Порсева В.В., Преображенский Н.Д., Корзина М.Б.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Введение капсаицина в нейротоксических дозах приводит к гибели капсаицин-чувствительных нейронов, содержащих TRPV1-рецепторы, и выпадению афферентной импульсации, что вызывает изменения в постсинаптических нейронах. Одним из механизмов гибели капсаицин-чувствительных нейронов является повышение уровня внутриклеточного кальция. Кальций-связывающий белок парвальбумин (ПАВ) связывает катионы кальция, тем самым снижая его содержание внутри клетки. В связи с этим целью исследования явилось изучение структурных характеристик спинальных интернейронов, содержащих парвальбумин, в условиях дефицита афферентации, вызванного системным введением капсаицина взрослым самкам мышей.

Исследование проведено на мышах C57BL/6 в возрасте 16 недель (20±5 г), которые были разделены на две группы: контрольная (n=4), опытная (n=4) – подкожное введение капсаицина (50 мг/кг) однократно (Gamse, 1982). Забор материала у двух групп мышей осуществляли на 30 день с момента введения капсаицина. Эксперименты выполнялись в соответствии с решением Этического комитета ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 21 от 02.08.2017 г.). Иммуногистохимическим методом исследовали экспрессию ПАВ в нейронах T3 – T5 сегментов спинного мозга (СМ) на поперечных криостатных срезах толщиной 14 мкм. Проводили измерение площади сечения (ПС) ПАВ-иммунореактивных (ПАВ-ИР) нейронов и их подсчет в пределах каждой пластинки. Долю ПАВ-ИР нейронов определяли как их отношение к общему количеству нейронов в пластинке, выявленных флюоресцентным Нисслем, которое принимали за 100%. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011).

Результаты исследования показали, что у мышей контрольной и опытной групп на поперечных срезах серого вещества СМ ПАВ-ИР нейроны выявлялись во всех пластинках. Исключением явились иммунонегативные области, в которых экспрессия ПАВ не наблюдалась – это нейроны пластинки I, эфферентные соматические нейроны (мотонейроны) пластинки IX и симпатические нейроны (преганглионарные) пластинки VIII. ПАВ-ИР нейроны во всех пластинках располагались диффузно в виде одиночных клеток, характеризовались яркой флюоресценцией нейроплазмы и проксимальных частей отростков.

Подсчет ПАВ-ИР нейронов показал, что в опытной группе отмечалось значимое увеличение их количества по сравнению с данными контроля, что составило: во II – в 4,3 раза, в III – в 6 раз, в IV – в 2,4 раза, в V – в 2,9 раза, в VI – в 7,6 раза, в VII – в 4,3 раза, в X – в 3 раза. При этом, общее количество нейронов, определяемое флюоресцентным Нисслем, напротив, уменьшалось после введения капсаицина, но только в пластинках I, II и III на 30,6%, 27,0% и 29,2% соответственно ($p < 0,05$).

Определение средней ПС ПАВ-ИР нейронов показало, что в контрольной группе животных самые большие размеры имели нейроны пластинки VIII (ПС > 200 мкм²), а самые малые размеры имели нейроны пластинки II (ПС < 40 мкм²). ПС ПАВ-ИР нейронов пластинок III и IV превышала 50 мкм², а пластинок V, VII и X была более 100 мкм². После введения капсаицина размеры ПАВ-ИР нейронов значимо увеличились только в пластинках VII и VIII на 13% и 11% соответственно.

Таким образом, увеличение экспрессии ПАВ в нейронах пластинок II, III, IV, V, VII, VIII и X позволяет предположить, что кальций-связывающий белок парвальбумин выполняет нейропротекторную функцию, снижая уровень активного кальция, тем самым обеспечивает нейрональный кальциевый гомеостаз в условиях химической деафферентации капсаицином.

СВЕРХМЕДЛЕННЫЕ СПОНТАННЫЕ ОСЦИЛЛЯЦИИ В ЗРИТЕЛЬНОЙ СЕНСОРНОЙ СИСТЕМЕ: ГЛАЗ, МОЗГ, ПЕРЦЕПЦИЯ

Пугачев К.С., Сметанин И.Э., Репин Г.В., Пугачев Р.О., Филиппов И.В.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Актуальность и предпосылки. Одним из перспективных подходов при изучении церебральных механизмов зрительного восприятия является использование реверсивных изображений, представляющих собой неизменные стимулы с двойственным характером восприятия, когда зрительный стимул как таковой остается постоянным, а его перцепция при длительном предъявлении флюктуирует между двумя альтернативными трактовками. Подобные изменения перцепции носят квазипериодический характер и находятся в диапазоне секунд и десятков секунд. Сопоставимыми по своей временной динамике на уровне головного мозга являются сверхмедленные колебания потенциалов (СМКП) с частотами менее 0,5 Гц (секундные, многосекундные, минутные и многоминутные), а также квазипериодические медленные изменения быстрых ритмов ЭЭГ (кпмир ЭЭГ) – тета-, альфа-, бета- и гамма-диапазонов. Описаны сходные по своим частотным характеристикам медленноволновые осцилляции диаметра зрачка (МВОДЗ), связанные с уровнем активности норадренергических и холинергических волокон соответствующих нейромедиаторных систем (Reimer et al., 2016). Вместе с тем до настоящего времени оставалась неизученной взаимосвязь между осцилляциями перцепции, с одной стороны, и СМКП, кпмир ЭЭГ и МВОДЗ, с другой, что и послужило стимулом к проведению данного исследования. В основу работы легла проверка сформулированной нами рабочей гипотезы о том, что циклические осцилляции перцепции (с частотами менее 0,5 Гц) связаны с текущей динамикой СМКП и кпмир ЭЭГ на уровне затылочной коры, а также соотносятся с МВОДЗ.

Цель исследования состояла из двух частей: (1) выявить закономерности изменений динамики СМКП и кпмир ЭЭГ на уровне зрительных областей коры больших полушарий головного мозга при предъявлении изолюминантных инвариантных и реверсивных зрительных стимулов у здоровых испытуемых, а также МВОДЗ; (2) установить корреляционные связи при предъявлении реверсивных изображений для пар сравнения: флюктуации перцепции-СМКП, флюктуации перцепции-кпмир ЭЭГ, флюктуации перцепции-МВОДЗ.

Материалы и методы. В исследование были включены 30 здоровых испытуемых добровольцев (15 мужчин и 15 женщин) в возрасте 20 – 50 лет, общее количество – 60 экспериментов. У каждого испытуемого осуществлялась синхронная регистрация сигнала СМКП-ЭЭГ диапазона (0,001 – 100 Гц) в отведениях О1 и О2 (усилителем постоянного тока MCS Neuro-MDM) с использованием хлорсеребряных поверхностных электродов; диаметра правого и левого зрачков (айтрекер Tobii Eye Tracker 4L). Предъявление инвариантного и реверсивных зрительных стимулов (куба Неккера и лестницы Шредера) и синхронизация отчета испытуемого о типе восприятия двойственных изображений с электрофизиологическими данными и айтрекингом осуществлялась с помощью TTL-меток при помощи программного обеспечения (ПО) PsychoPy3 2020.2.2. Полученные данные импортировались в ПО Spike2 8.21 (CED) для дальнейшей обработки и анализа. Анализировались спектральные и корреляционные характеристики осцилляций (с периодом от 2 секунд до 15 минут) СМКП, а также соответствующих флюктуаций кпмир ЭЭГ (средней частоты), диаметра зрачков и спонтанных изменений восприятия изображений. Оценка степени достоверности отличий проведена с использованием однофакторного дисперсионного анализа с применением критерия Краскела-Уоллиса, при этом отличия с $p < 0,01$ рассматривались как достоверные.

Результаты. (1) Установлено, что у всех испытуемых в различных условиях наблюдений постоянно присутствует спонтанная сложноорганизованная динамика (с

периодами от нескольких минут до нескольких секунд) СМКП, ЭЭГ, а также спонтанных флюктуаций диаметра зрачков и зрительного восприятия. (2) Выявлено, что динамика СМКП, кпмир ЭЭГ и МВОДЗ не была специфична к типу использованных в наших экспериментах реверсивных изображений, но при этом она достоверно отличалась от таковой при их предъявлении по сравнению с инвариантным зрительным стимулом. (3) Обнаружено, что спектрограммы минутных и многосекундных СМКП имеют среднюю и высокую корреляцию со спектрограммами МВОДЗ (0,64 – 0,83), а также среднюю корреляционную связь со спектрограммами перестроек перцепции (0,58 – 0,65). При корреляционном анализе спектрограмм секундных СМКП была выявлена высокая и очень высокая корреляция со спектрограммами секундных флюктуаций МВОДЗ (0,86 – 0,91). Корреляция спектрограмм секундных СМКП с перестройками перцепции также имела высокую и очень высокую степень взаимосвязи (0,87 – 0,91). Сходные показатели корреляционных связей прослеживались в секундном диапазоне в группе сравнения флюктуации диаметров зрачков-перестройки уровня зрительного восприятия.

Выводы. Таким образом, можно предположить тесную взаимосвязь между динамикой крайне медленно-волновых нейрофизиологических (СМКП, кпмир ЭЭГ) и психофизиологических (флюктуации уровня зрительного восприятия, МВОДЗ данные) показателей во временном диапазоне секунд, десятков секунд и минут, что позволяет выдвинуть гипотезу о важной роли этих компонентов активности ЦНС в возникновении и поддержании зрительного внимания/перцепции при формировании образа зрительного восприятия объекта.

БЕЛКИ ПЛОТНЫХ КОНТАКТОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И В НЕРВНОМ ПРОВОДНИКЕ МЫШЕЙ MDX

Разговорова И.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Миодистрофия Дюшенна, вызванная мутацией в гене, кодирующем цитоскелетный белок дистрофин, проявляется прогрессирующей мышечной дегенерацией. Данный белок экспрессируется как в виде длинной, так и укороченных изоформ в постсинаптических окончаниях нейронов в головном мозге. Исчезновение дистрофина приводит к изменению когнитивных и поведенческих реакций. Использование мышей mdx, как экспериментальной модели миодистрофии Дюшенна, позволяет оценивать нарушения, связанные с потерей только длинных изоформ данного белка как в центральной, так и в периферической нервной системе. В норме дистрофин связан с дистрофин-ассоциированным белковым комплексом. Этот комплекс является критическим сигнальным аппаратом между внеклеточным матриксом и внутриклеточным цитоскелетом. Таким образом любые изменения в составе белков данного комплекса могут отражаться на барьерных механизмах в головном мозге и нервном проводнике. Однако остается не вполне понятным, как меняются главные компоненты этих барьеров – белки плотных контактов, в особенности клаудин-1, -5, и окклюдин.

Опыты проводили на самцах мышей mdx и мышях C57bl с соблюдением биомедицинских норм, определенных законодательством РФ. В нашей работе анализ данных белков плотных контактов методом Вестерн-блот показал отсутствие достоверного различия их уровня в головном мозге у мышей линии mdx по сравнению с контрольной группой мышей C57bl. Эти результаты могут свидетельствовать о функциональной целостности барьера при потере длинных изоформ дистрофина. Исследование этих же белков плотных контактов в ткани седалищного нерва у мышей показало увеличение уровня клаудина-5 и окклюдина и уменьшение клаудина-1 у мышей mdx по сравнению с C57Bl.

Для оценки локомоторной активности и тревожности мышей mdx и C57Bl использовали крестообразный приподнятый лабиринт. При анализе локомоторного компонента наблюдалось достоверное снижение двигательной активности мышей mdx по сравнению с мышами C57Bl. При оценке тревожного компонента (стойки, смещенная активность, время в открытых рукавах) не было выявлено достоверных отличий у мышей mdx по сравнению с контролем.

Таким образом, исчезновение отдельных форм дистрофина приводит не только к снижению двигательной активности мышей mdx, но и к изменению уровня белков плотных контактов: клаудина-1, и - 5, а также окклюдина. Наличие этих белков в плотных контактах миелиновой оболочки периферических нервов и изменение их уровня у мышей mdx может указывать на вовлеченность этих белков в механизмы передачи нервного сигнала.

ФОРМИРОВАНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ: ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙРОГЕНЕЗОМ И АПОПТОЗОМ

Ратмиров А.М., Грудень М.А., Инокентьева В.И., Кузина А.В., Сторожева З.И.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия

Пространственная память – это сложный когнитивный процесс, который важен для навигации в нашей физической среде и взаимодействия с окружающим миром. Исследования в области нейробиологии помогли выяснить нейрональные и поведенческие механизмы, лежащие в основе пространственной памяти, а также факторы, которые могут влиять на ее развитие и функционирование. В настоящее время сохраняется интерес к изучению молекулярных событий, лежащих в основе формирования пространственного памятного следа у человека и животных, в частности, фундаментальных клеточных процессов, такие как нейрогенез и апоптоз. Это связано с пониманием развития амнезий при нарушениях памяти, например при нейродегенеративных заболеваниях или травмах головного мозга. **Целью** настоящего исследования явилось сравнительное изучение уровня транскрипционной активности генов-регуляторов различных стадий нейрогенеза – *Pura* (стадия пролиферации) и *Nrg1* (стадии дифференцировки и миграции вновь образованных нейрональных или глиальных клеток), а также каспаз – *Casp-8* и *Casp-9* при формировании долговременной пространственной памяти у половозрелых крыс самцов Wistar. **Методы.** В поведенческих экспериментах использовали две группы животных, а именно, группу крыс, подвергнувшихся принудительному плаванию (активный контроль) и группу обученных животных, у которых вырабатывали пространственный навык нахождения скрытой платформы в водном лабиринте Морриса. В качестве контроля для генетических исследований служили нативные животные того же возраста и пола, не проходившие экспериментальный протокол. В генетических экспериментах для изучения экспрессии генов *Pura* и *Nrg1*, а также *Casp-8* и *Casp-9* в релевантных структурах – гиппокампе, префронтальной коре и мозжечке *Nrg1* мозга в группах наивных крыс, «активного контроля» и обученных животных применяли метод ПЦР в режиме реального времени. **Результаты.** Показано, что критерием установления прочной долговременной памяти являлся тот факт, что время достижения платформы в конце 4-го сеанса на 4-й день обучения составляло менее 10 секунд. У животных с сформированным пространственным навыком выявлена специфическая и разнонаправленная экспрессия генов нейрогенеза *Pura* и *Nrg1* преобладанием повышенной экспрессии в префронтальной коре для гена *Pura* и мозжечке для гена *Nrg1*. Отмечено снижение активности *Casp-8* в изученных структурах мозга у обученных мышей по сравнению с активным контролем. В то же время, в группе обученных крыс документировано выраженное повышение активности гена *Casp-9* во

всех исследованных церебральных структурах при сравнении с группой мышей активного контроля. Изучены взаимосвязи экспрессии указанных 4-х генов с поведенческими показателями различных стадий формирования памятного следа, а также межструктурные корреляции экспрессионной активности изученных генов. Полученные данные расширяют и углубляют современные представления о молекулярно-клеточных механизмах когнитивных функций в норме и патологии. **Заключение.** Полученные данные позволят приблизиться к пониманию генетической регуляции процесса становления пространственной памяти, а также патогенеза заболеваний нервной системы, обусловленных нарушениями генетической регуляции, в частности, активности нейрогенеза и апоптоза, а также могут быть использованы при разработке новых методов лечения, прогноза и диагностики заболеваний, сопровождающихся дефицитом памяти.

ЧИСЛЕННАЯ ПЛОТНОСТЬ DCX-ПОЗИТИВНЫХ ПРОГЕНИТОРОВ В РОСТРАЛЬНОМ МИГРАЦИОННОМ ПОТОКЕ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Румянцева Т.А., Пожилов Д.А., Варенцов В.Е., Дашян Т.С.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Открытие нейрогенеза в постнатальном развитии организма («взрослый нейрогенез») поставило множество вопросов о его интенсивности, эффективности и направленности. Отдельного внимания требует получение морфологических критериев, позволяющих оценить этот процесс.

В большинстве работ для оценки интенсивности нейрогенеза используют показатели пролиферации в субвентрикулярной зоне латеральных желудочков и в субгранулярной зоне зубчатой извилины гиппокампа. Между тем, у крыс в течение всей жизни определяется ростральный миграционный поток, который представляет собой глиальные трубки, окружающие центральный сосуд и формирующие вместилища, по которым идет миграция прогениторов из субвентрикулярной зоны в центральную часть обонятельной луковицы. Четкая локализация этой структуры позволяет унифицировать оценку интенсивности нейрогенеза по наполнению глиальных трубок DCX+ позитивными нейрональными прогениторами в норме и при экспериментальных воздействиях. Главным фактором, определяющим интенсивность нейрогенеза, является возраст. Это и определило цель настоящего исследования.

Цель исследования установить нормативные показатели наполнения миграционного потока прогениторами, экспрессирующими DCX, у крыс от новорожденности до предстарческого возраста.

Материал и методы. Исследованием выполнено на 60 крысах линии Вистар возраст от 3 до 600 суток. Объект исследования – дистальная часть рострального потока, расположенная в центре обонятельной луковицы. На парафиновых срезах толщиной 7 мкм иммуногистохимически (первичные поликлональные антитела anti-DCX ab18723 (UK, разведение 1:500), вторичные поликлональные антитела (Goat anti Rabbit IgG ab97051, UK, разведение 1:1000)) выявлялись прогениторные клетки, экспрессирующие даблкортин (DCX). Производили подсчет позитивных клеток в 20 полях зрения в исследуемой зоне, пересчитывали на мм², оценивали численную плотность позитивных клеток. Данные представлены в виде $M \pm \sigma$, для анализа различий показателей использовался дисперсионный анализ ANOVA (*Analysis of variation*). Животных выводили из эксперимента передозировкой золетила. При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Минздрава СССР №755 от 12.08.1977 г. и Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (Страсбург, 18 марта 1986).

В результате установлено, что на протяжении от 3 до 14 суток наблюдается резкое, в 2,3 раза, возрастание численной плотности DCX+прогениторов от $420 \pm 64,1$ шт./мм² до $1120 \pm 130,3$ шт./мм². Этот подъем переходит в прогрессивное снижение плотности, в 2 раза в течение двух недель. От 30 суточного до 90 суточного возраста выявлена вторая волна повышения численной плотности прогениторов до максимальных значений от $840 \pm 96,1$ до $1491 \pm 96,0$ шт./мм² ($p < 0,05$). Затем на протяжении от 90 до 180 суток показатель достоверно не изменяется, сохраняясь на высоком уровне. На 240 сутки плотность DCX+клеток снижается до $985 \pm 84,6$ шт./мм² ($p < 0,05$). На 540 и 600 сутки еще до $638 \pm 51,3$ и $508 \pm 39,2$ шт./мм² ($p < 0,05$).

Выявленные фазы изменения экспрессии даблкортина связаны с переходом от внутриутробного периода к внеутробному (рождение) и с периодом полового созревания. После 180 суток экспрессия DCX снижается, отражая падение интенсивности нейрогенеза, а в предстарческом возрасте – угнетение этого процесса. Отмеченная динамика плотности прогениторов в ростральном миграционном потоке может быть использована в качестве норматива при оценке влияния различных факторов на интенсивность нейрогенеза.

ОЦЕНКА ТРЕВОЖНО-ФОБИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ И ПРОНИЦАЕМОСТИ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА У МЫШЕЙ

А.Ф. Салихзянова, А.И. Муллакаева, О.В. Яковлева, Г.Ф. Ситдикова

Казанский Приволжский Федеральный университет, Казань, Россия

Доказано непосредственное влияние микробиоты на развитие и деятельность головного мозга. Такое взаимодействие кишечной микробиоты с нервной системой описывают термином «ось кишечник-мозг» (Arslanova et al., 2021). Синдром раздраженного кишечника (СРК) – функциональное желудочно-кишечное расстройство, которое определяется как переменная комбинация хронических или рецидивирующих желудочно-кишечных симптомов, не объясняемых никакими структурными или биохимическими аномалиями (Sandhu, Paul, 2014). Целью нашей работы было проанализировать тревожно-фобическое состояние в экспериментальной модели хронической неонатальной СРК у мышей, вызванной ректальным введением разбавленного раствора уксусной кислоты. Кроме того, мы определили проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) у мышей с СРК.

Животных опытной группы ($n=25$) в течение 21 дня ежедневно подвергали неонатальной сенсбилизации путем внутриванальной введения разбавленного 1% раствора уксусной кислоты. Введение 1% раствора уксусной кислоты проводилось десятидневным мышам в течение 14 дней (0.3 мл в возрасте 10 – 14 дней и 0.5 мл в возрасте 15 – 21 дней). Мыши контрольной группы получали эквивалентный объем физиологического раствора ($n=24$). Вливание проводили через катетер коронарной ангиографии, вставленный на 2 см из ануса, при этом животных выдерживали в вертикальном положении головой вниз в течение 30 секунд для предотвращения утечки интраколонного инстиллята. Оценивали выживаемость и массу тела мышей обеих групп. Для оценки тревожности использовали тесты Открытое поле, Тёмно-светлая камера, Интегральный показатель тревожности. Проницаемость ГЭБ у мышей оценивали помощью красителя Эванс Блу (Evans Blue) по стандартной методике (в модификации Wick et al., 2018) в гиппокампе и мозжечке. Статистическая оценка различий в сравниваемых выборках оценивалась для 5% уровня значимости. Достоверность различий оценивали с помощью критерия Манна-Уитни для непараметрических выборок.

В процессе моделирования СРК наблюдалась более высокая смертность и снижение прибавки в весе мышей. Анализ тревожности показал увеличение Интегрального показателя тревожности у мышей контрольной и опытной групп сразу после окончания моделирования СРК. Однако через 2 недели после окончания моделирования в контрольной группе

Интегральный показатель тревожности снижался, в опытной группе этот показатель сохранялся на прежнем высоком уровне. Анализ тревожно-фобического состояния по времени нахождения в светлой камере, времени первого выхода из темной камеры и времени выхода из центра Открытого поля, количеству актов груминга и дефекации показал достоверное усиление тревожности мышей опытной группы.

Анализ проницаемости ГЭБ не выявил выхода красителя за пределы церебральных сосудов в контрольных условиях. В модели хронической пост-воспалительной СРК в тканях мозжечка и гиппокампа наблюдалось 3-кратное увеличение концентрации Эванс Блу (n=7), что свидетельствовало о значительном нарушении проницаемости ГЭБ

Таким образом, в настоящей работе нами было показано увеличение тревожности мышей в хронической модели СРК, что может быть связано с увеличением проницаемости гематоэнцефалического барьера.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-25-20045).

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА И ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ В ЧЕРНОМ ВЕЩЕСТВЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Сальков В.Н., Худоевков Р.М.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр
неврологии», Москва, Россия*

При болезни Паркинсона (БП) железо накапливается в клеточных структурах черного вещества головного мозга, что было установлено прижизненно методами магнитно-резонансной томографии (Wallis L.I. et al., 2008), а также на аутопсийном материале головного мозга гистохимически и методом нейтронного активационного анализа (Ward R.J. et al., 2014). Вместе с тем, распределению железосодержащих белков в указанных структурах посвящены лишь отдельные работы (Reinert A. et al., 2019), и научных сведений об изменениях распределения этих белков в черном веществе при БП явно недостаточно.

Цель исследования – охарактеризовать распределение соединений железа (II) и железосодержащих белков в структурах черного вещества головного мозга при БП.

Материал и методы. Работа выполнялась на коллекции срезов головного мозга человека лаборатории нейроморфологии и была одобрена локальным этическим комитетом. Методами гистохимии и иммуногистохимии локализовали соединения железа (II) и железосодержащие белки (CD71 и Н-ферритин) в клеточных структурах черного вещества аутопсийного мозга людей с БП (n=4) и мозге людей, не проявлявших при жизни неврологической симптоматики (контроль, n=7). Их распределение и накопление в исследуемых структурах оценивали на микроскопах «Leica DMLB» и «Nikon Ni-E», оснащенных видеокамерами и системами анализа видеоизображений.

Результаты. В группе контроля в черном веществе соединения железа (II) располагались относительно равномерно в нейропиле, их также обнаруживали вокруг стенок сосудов и в единичных клетках нейроглии. По сравнению с контролем у людей с БП исследуемые соединения в нейропиле окрашивались неравномерно, но более интенсивно. При БП их выявляли не только в нейроглии, но и в нейронах (в единичных клетках). В обеих группах иммуноокрашивание на трансферриновый рецептор характеризовалось равномерной мембранной реакцией на гликопротеин CD71 в клетках черного вещества. Н-ферритин располагался в нейропиле вокруг клеток GFAP-позитивной нейроглии и в клетках микроглии. В то же время в контрольной группе Н-ферритин выявлялся в единичных клетках микроглии, а у лиц с БП он определялся во множестве микроглиальных клеток.

Заключение. БП морфохимически характеризуется: 1) устойчивым накоплением в черном веществе соединений железа (II), которые локализуются преимущественно в нейроглии и нейропиле, а в нейронах они определяются лишь в единичных клетках; 2) избыточным накоплением в микроглиальных клетках черного вещества Н-ферритина; 3) равномерной мембранной реакцией клеточных структур черного вещества на гликопротеин CD71.

ВЛИЯНИЕ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА НА АКТИВНОСТЬ P2X3- И TRPV1-РЕЦЕПТОРОВ В АФФЕРЕНТАХ ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА КРЫСЫ

Свитко С.О., Королёва К.С., Ананьев А.С., Буглинина А.Д., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Привожский) Федеральный Университет, Казань, Россия

Монооксид углерода (СО) – это эндогенно продуцируемый сигнальный газотрансмиттер, участвующий в ноцицепции, нейротрансмиссии и церебральной гемодинамике. Имеются данные об участии СО в механизмах патогенеза мигрени, так, например, в результате генетического анализа пациентов с мигренью была показана значимая роль мутации фермента синтеза СО гемоксигеназы в патогенезе данного заболевания. Однако нейрональные механизмы участия СО в развитии мигрени малоизучены. Тригемино-васкулярная (тройнично-сосудистая) система считается источником болевого сигнала при мигрени. Нейроны и афференты тройничного ганглия экспрессируют различные рецепторы и каналы, участвующие в восприятии повреждающего стимула и проведении ноцицептивной информации в ЦНС. Одними из типов таких рецепторов являются P2X3- и TRPV1-рецепторы, активно изучаемые в контексте мигрени. АТФ проявляет проноцицептивную активность в менингеальных структурах за счет воздействия на P2X3 рецепторы, а TRPV1-рецепторы присутствуют в менингеальных структурах, ассоциированных с мигренью, однако, влияние СО на данные типы рецепторов в системе тройничного нерва не изучено. В связи с этим, целью работы являлось выявление роли СО в активности P2X3 рецепторов и TRPV1-каналов тройничного нерва крысы. Эксперименты проводились на самцах (4 – 8 нед.) крыс линии Wistar. В работе использовали электрофизиологический метод регистрации потенциалов действия (ПД) тройничного нерва, иннервирующего твердую мозговую оболочку в препарате получерепа крысы. Протоколы экспериментов соответствовали этическим нормам по гуманному обращению с животными, принятым в КФУ и одобрены Локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015). Для выявления роли СО в активности P2X3 рецепторов, использовался А-317491 (10 мкМ), специфический блокатор P2X3, в котором препарат инкубировали 30 мин, а затем добавляли экзогенный донор СО, CORM-2 (30 мкМ), который обладает собственной проноцицептивной активностью, увеличивая частоту ПД более, чем в 2 раза (исходная частота 126.3±35.5 ПД за 5 мин, а после добавления CORM-2 280.3±36.5 ПД за 5 мин (n=4; p = 0.04)). В контроле частота ПД составила 133.2±20.1 ПД за 5 мин (n=3); после аппликации А-317491 частота ПД составила 151.4±38.5 ПД за 5 мин, после добавления CORM-2 произошло достоверное увеличение частоты ПД, которая составила 316.2±35.2 ПД за 5 мин (n=3, p<0.05). Кроме того, на фоне предварительной инкубации в растворе, насыщенном СО, проноцицептивный эффект АТФ не проявляется. В контрольной группе АТФ (100 мкМ) вызывает достоверное увеличение частоты ПД (346±42.2 ПД за 5 мин). На фоне СО аппликация АТФ не приводит к достоверным изменениям частоты на всем протяжении времени инкубации. Для выявления роли СО в активности TRPV1, использовали его антагонист капсазепин (20 мкМ). После одиночной аппликации капсазепина (20 мкМ) частота ПД составила 192.2±47.5 ПД за 5 мин, что не отличалось от контрольных значений (207.3±35.4 ПД за 5 мин; n=3). На фоне капсазепина не наблюдалось достоверного увеличения частоты ПД, вызванных аппликацией CORM-2 (30 мкМ) (n=3). После добавления в раствор

CORM-2 частота ПД составила 274.4 ± 30.5 ПД за 5 мин ($n=3$). На фоне СО наблюдается увеличение времени инактивации TRPV1 рецепторов по сравнению с контрольной группой экспериментов. В контроле активация TRPV1 рецепторов капсаицином (1 мкМ) длится 1 – 2 мин, затем частота ПД снижается до исходных значений. Однако в присутствии СО наблюдалось увеличение времени активности TRPV1 рецепторов до 4х минут, что может объяснять проноцицептивное действие СО. Таким образом, исходя из полученных данных, мы можем предположить, что механизм проноцицептивного действия СО может быть связан с активацией TRPV1 рецепторов.

Работа выполнена при поддержке Гранта президента РФ МК-4584.2022.1.4

ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА АКТИВНОСТЬ P2X И TRPV1 РЕЦЕПТОРОВ В АФФЕРЕНТАХ ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА КРЫСЫ

Г.Ф. Ситдикова, К.С. Королева

Казанский Федеральный университет, Казань, Россия

Оксид азота (NO) – представитель семейства газомедиаторов, присутствующий в большинстве тканей организма млекопитающих и вовлеченный в регуляцию широкого спектра физиологических процессов, в том числе в патогенез мигрени. В менингеальных оболочках NO образуется eNOS, экспрессирующейся в эндотелии церебральных сосудов, а также pNOS, локализующейся непосредственно в афферентах нервных волокон. Согласно современным представлениям источником болевых ощущений при мигрени являются расположенные в менингеальных тканях периферические афференты тройничного нерва, сенсibilизация/активация которых приводит к формированию ноцицептивного сигнала. Целью данной работы явилось выявление эффектов NO на электрическую активность тройничного нерва крысы и взаимодействия NO с TRPV1 и P2X3 рецепторами как при кратковременной аппликации, так и в модели хронической мигрени.

Эксперименты проводились на самцах крыс линии Wistar возраста P40 – 45. Все экспериментальные протоколы соответствовали международным этическим нормам по гуманному обращению с животными и одобрены Локальным этическим комитетом КФУ (протокол 33 от 25.11.2021). Регистрацию электрических сигналов, возникающих в периферическом отростке тройничного нерва, проводили с использованием препарата полочерепа крысы с сохраненными отростками тройничного нерва. Для моделирования хронической мигрени нитроглицерин (НТГ) вводили 5 раз через день в течение 9 дней. Анализировали механическую чувствительность с использованием волосков Фрея и фотофобию в тесте Темно-светлая камера.

Аппликация донора NO – нитропрусида натрия (SNP, 200 мкМ) приводила к увеличению частоты генерации потенциалов действия тройничного нерва уже к 5 мин. Субстрат NO-синтазы, L-аргинин (300 мкМ) сходным образом повышал частоту спайкования к 25 мин, причём этот эффект предотвращался ингибитором pNOS 7-нитроиндазолом (7NI). Для исследования влияния NO на активность P2X3 рецепторов тройничного нерва был использован АТФ в концентрации 100 мкМ, который вызывал усиление спайкования тройничного нерва. Эффект АТФ не изменялся в условиях предварительной инкубации препарата в доноре NO, также и NO повышал частоту спайкования при ингибировании P2X3 рецепторов. В условиях моделирования мигрени с помощью инъекций нитроглицерина (10 мг/кг) базовая частота потенциалов действия в афферентах тройничного нерва достоверно не отличалась от контрольной группы, а эффект АТФ не отличался от его влияния в контроле.

Для исследования влияния экзогенного донора NO на активность TRPV1 рецепторов был использован капсаицин (1 мкМ), который вызывал резкое и кратковременное усиление электрической активности. При этом предварительная инкубация препарата в растворе,

содержащем донор NO, способствовало достоверному усилению TRPV1-вызванной активности. Аналогично, усиление эффекта капсаицина наблюдалось и у крыс с хроническим введением НТГ.

Таким образом, экзогенный и эндогенный NO вызывают усиление активности тройничного нерва, оказывая проноцицептивные эффекты. Эффекты NO не связаны с прямой активацией P2X3 и TRPV1 рецепторов. Однако значительное усиление эффектов активации TRPV1 наблюдалось как при кратковременной аппликации донора NO, так и в модели хронической мигрени. По-видимому, сенситизация TRPV1 периферических афферентов может опосредовать проноцицептивные эффекты NO в условиях эпизодической и хронической мигрени.

Работа поддержана грантом президента РФ МК-4584.2022.1.4

ВЛИЯНИЕ ДВАДЦАТИСУТОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА НА КОРУ МОЗЖЕЧКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Слоневская Е.А.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Беларусь

Цель работы – определить количество белка нейроглобина и активность дыхательных ферментов в клетках Пуркинье мозжечка после двадцатисуточного холестаза.

Исследование выполнено на базе лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Гродненский государственный медицинский университет». При проведении экспериментальных исследований мы соблюдали принципы гуманного обращения с животными и учитывали рекомендации Рабочей группы Федерации европейского сообщества по науке о лабораторных животных. На выполнение данных исследований получено разрешение этического комитета Гродненского государственного медицинского университета.

Материал для исследования взят от 10 белых крыс-самцов (пять опытных и пять контрольных). Моделирование холестаза проводили общепринятыми методами – перевязкой общего желчного протока в области ворот печени. Образцы мозга от всех животных обрабатывали параллельно и в одинаковых условиях. Для этого их фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде при +4°C (на ночь), а затем заключали в парафин. Стандартные парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия) и монтировали на предметные стекла.

Для иммуногистохимического выявления нейроглобина применяли первичные моноклональные мышинные антитела фирмы Abcam (Великобритания, ab. 37258) в разведении 1:600. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436).

Для гистохимического исследования другие образцы тех же отделов мозга, предварительно замороженные парами азота, помещали для хранения в жидкий азот, а затем в криостат Leica CM 1840 (Leica Microsystems GmbH, Германия) (-15°C), из них готовили срезы толщиной 10 мкм. Их обрабатывали для выявления оксидоредуктаз, связанных с циклом Кребса – сукцинатдегидрогеназы (СДГ; КФ 1.3.99.1) и с транспортом электронов – дегидрогеназы восстановленного НАД (НАДН-ДГ; КФ 1.6.99.3).

Цитофотометрию клеток Пуркинье в парафиновых сагиттальных срезах, окрашенных по методу Ниссля и иммуногистохимического метода, проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений Image Warp (Bit Flow, США) «Bioscan NT» 2.0 (Беларусь-США).

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программы Statistica 10.0 для Windows с нахождением U-test (Mann-Whitney). Достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$.

Для более полной картины мы исследовали молекулярный слой и зернистые нейроны коры мозжечка. Двадцатисуточный холестаза приводит к снижению активности СДГ в нейропиле молекулярного слоя коры мозжечка на 17% ($p=0,028$), в клетках Пуркинье – на 24% ($p=0,001$) и в зернистых нейронах – на 25% ($p=0,001$). Происходит снижение активности НАДН-ДГ в клетках Пуркинье – на 11% ($p=0,006$), в зернистых нейронах – на 31% ($p=0,001$) по сравнению с контролем. Иммунореактивность кислород-депонирующего белка нейроглобина спустя двадцать суток холестаза снижена на 9% ($p=0,0001$).

Таким образом, нарушение циркуляции компонентов желчи в организме приводит к нарушению структурных и метаболических изменений не только в клетках Пуркинье, но и в других отделах коры мозжечка. Наблюдаемые эффекты можно связать с обусловленной ранней недостаточностью их энергетического и синтетического аппаратов, повреждением мембран, оргanelл.

МОТОРНЫЕ И КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ У СТАРЕЮЩИХ МЫШЕЙ C57Bl/6: АССОЦИАЦИЯ С АКТИВНОСТЬЮ МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ МОЗЖЕЧКА И ФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ

Соловьева О.А.¹, Грудень М.А.¹, Кудрин В.С.², Михайлова Н.П.¹, Наркевич В.Б.²,
Шерстнев В.В.¹, Сторожева З.И.¹

¹ – ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия

² – ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Актуальной и недостаточно изученной проблемой нейробиологии старения остается вопрос о возможности компенсации возрастных нарушений, в том числе за счет изменения активности нейромедиаторных систем различных структур мозга. Целью исследования была сравнительная оценка двигательной активности, а также кратко- и долговременной памяти у мышей на стадии зрелости и на начальном этапе старения в сопоставлении с показателями активности моноаминергических нейромедиаторных систем в коре больших полушарий и мозжечке.

У самцов мышей в возрасте 6 и 12 месяцев оценивали активность в открытом поле (ОП), кратко- и долговременную память в модели распознавания нового объекта (РНО), а также изменения походки. В мозжечке и фронтальной коре определяли уровень норадреналина, дофамина и серотонина, а также их метаболитов. Все манипуляции с животными были проведены с соблюдением требований, изложенных в «Правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных на заседании этической комиссии НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина (протокол № 1 от 3.09.2005), и директиве ЕС 2010/63/ EU от 22 сентября 2010 г.

У стареющих животных отмечено нарушение устойчивости походки и инициации движения, при оценке спонтанной двигательной активности в ОП – снижение скорости передвижения и длины пройденного пути. При тестировании в модели РНО обнаружен дефицит долговременной памяти на фоне сохраненных ориентировочно-исследовательской активности и кратковременной памяти. В коре мозга показано снижение (от 70% до 97%) уровня дофамина и его метаболитов с повышением уровня метаболизма исследованных нейротрансмиттеров, а в мозжечке – повышение содержания всех исследованных моноаминов и снижение уровня метаболизма дофамина. В группе стареющих (но не взрослых) мышей содержание дофамина в мозжечке демонстрировало отрицательную корреляцию с его

содержанием в коре и положительную – с активностью в ОП, содержание же норадреналина в коре было положительно связано с обследованием «знакомых» объектов при экспозиции и тестировании.

Таким образом, результаты корреляционного анализа поведенческих и нейрохимических данных позволяют предположить, что в условиях снижения функциональной активности коры у стареющих животных дофаминергической системе мозжечка принадлежит существенная роль в компенсации моторных функций, а норадренергической – в поддержании оптимального уровня исследовательской активности в изменяющейся среде.

РОЛЬ АТФ-ЗАВИСИМЫХ К-КАНАЛОВ В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА НА СПОНТАННЫЕ И ВЫЗВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ

Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Ситдииков Ф.Г., Ситдикова Г.Ф.

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

В настоящее время установлено, что сероводород (H_2S) является газообразным посредником, участвующим во внутри- и межклеточной передаче сигналов, который эндогенно синтезируется в тканях животных и человека и оказывает разнообразные физиологические эффекты. Ферменты синтеза H_2S обнаружены во всех отделах ЖКТ, в эпителиальных клетках, мышечном слое, энтеральной нервной системе, а также в интерстициальных клетках Кахала. По мнению некоторых исследователей, АТФ-зависимые K^+ -каналы (K_{ATP} -каналы) могут быть мишенью H_2S , активация которых может опосредовать его ингибирующие эффекты на амплитуду сокращений гладкомышечных клеток. Однако, другие исследователи не наблюдали участия K_{ATP} -каналов в его эффектах. Таким образом, целью нашего исследования является изучение роли K_{ATP} -каналов в эффектах H_2S на спонтанные и вызванные карбахолином сокращения тощей кишки крысы.

Все эксперименты проведены в соответствии с Директивой Совета Европейских сообществ (86/609/ЕЕС) и одобрены локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015; протокол №33 от 25.11.2021). В экспериментах регистрировали спонтанные и вызванные карбахолином сокращения на изолированных полосках препарата тощей кишки крысы длиной 5 мм, который во время всего эксперимента омывался раствором Кребса при $37^\circ C$ в условии постоянной подачи карбогена. H_2S в экспериментах получали с помощью донора гидросульфида натрия (NaHS). Использовали блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид (50 мкМ), активаторы K_{ATP} -каналов диазоксид (100 мкМ), гликлазид (1мкМ) и агонист холинорецепторов карбахолин (1мкМ). Анализировали амплитуду, тоническое напряжение и частоту спонтанных сокращений, а также площадь под кривой (ППК) и амплитуду вызванных карбахолином сокращений препарата тощей кишки.

Добавление NaHS в концентрации 200 мкМ снижала амплитуду сокращений до 43% ($n=19$; $p<0.05$), тоническое напряжение – до 76% ($n=19$; $p<0.05$) и частоту – до 80% ($n=19$; $p<0.05$) по сравнению с контролем. Аппликация карбахолина (1 мкМ) вызывала резкое увеличение тонического напряжения, которое, достигнув максимального значения, снижалось и держалось на уровне плато. NaHS угнетал сокращение, вызванное карбахолином: ППК и амплитуда сокращения составили 59% ($n=37$; $p<0.05$) и 64% ($n=37$; $p<0.05$) соответственно, относительно эффектов карбахолина в контроле.

Блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид в концентрации 50 мкМ приводил к снижению амплитуды спонтанных сокращений ($n=24$; $p<0.05$), частота и тоническое напряжение при этом не менялись ($n=24$; $p>0.05$). На фоне действия глибенкламида эффект NaHS на амплитуду ($n=12$; $p<0.05$) и на частоту спонтанных сокращений сохранялся ($n=12$; $p<0.05$), а на тоническое напряжение не влиял ($n=12$; $p>0.05$). Активатор K_{ATP} -каналов диазоксид в

концентрации 100 мкМ приводил к снижению амплитуды ($n=22$; $p<0.05$) и частоты ($n=27$; $p<0.05$) спонтанных сокращений, тонус при этом не менялся ($n=28$; $p>0.05$). На фоне действия диазоксида эффект NaHS на амплитуду ($n=9$; $p<0.05$) и частоту ($n=4$; $p<0.05$) сокращений сохранялся, а ингибирующее влияние NaHS на тоническое напряжение не проявлялось ($n=16$; $p>0.05$). Сходные эффекты оказывал другой активатор K_{ATP} -каналов – гликлазид в концентрации 1 мкМ. Добавление гликлазида не приводила к изменению амплитуды, тонуса и частоты спонтанных сокращений ($n=8$; $p>0.05$). На фоне гликлазида эффект NaHS на амплитуду ($n=8$; $p<0.05$) и частоту ($n=8$; $p<0.05$) сохранялся, а на тоническое напряжение не влиял ($n=8$; $p>0.05$).

При этом глибенкламид и диазоксид не оказывали влияния на параметры вызванного карбахолином сокращения ($n=12$; $p>0.05$). В условиях действия глибенкламида и диазоксида ингибирующий эффект NaHS на амплитуду и ППК сохранялся ($n=12$; $p<0.05$).

Таким образом, эффекты H_2S на тоническое напряжение препарата тощей кишки могут опосредоваться активацией АТФ-зависимых K -каналов, однако, влияние на амплитуду, частоту спонтанных сокращений и вызванных карбахолином сокращений связаны с другими механизмами.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

ИЗМЕНЕНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ В ГЕРМИНАТИВНЫХ ЗОНАХ МОЗГА ПРИ СТАРЕНИИ

Степаничев М.Ю., Аниол В.А., Онуфриев М.В., Лазарева Н.А., Гуляева Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Принято считать, что старение связано с существенным снижением когнитивных функций, обусловленных уменьшением объема практически всех мозговых структур. Гиппокамп относится к отделам мозга, функции которого непосредственно связаны с формированием памяти. Отличительной особенностью гиппокампа является то, что на протяжении всей жизни в нем сохраняется популяция стволовых клеток, способных делиться и образовывать новые нейроны. Считается, что нейрогенез связан непосредственно с процессами обучения и памяти. В этой работе было исследовано, связано ли обучение крыс поиску скрытой платформы в водном лабиринте с процессами нейрогенеза в гиппокампе в разные возрастные периоды. Мы также изучили некоторые молекулярные процессы, которые могут быть вовлечены в регуляцию нейрогенеза в гиппокампе. Эксперименты на животных выполнены в соответствии с требованиями законодательства РФ в области защиты объектов исследования, и протоколы экспериментов утверждены Этической комиссией ИВНД и НФ РАН.

Было установлено, что самцы крыс Вистар возрастом 3 и 24 мес. способны обучаться решению упрощенной задачи в водном лабиринте, хотя крысы старшей возрастной группы делали это медленнее по сравнению с молодыми. В контрольных тестах и молодые, и старые крысы демонстрировали сходные показатели, характеризующие состояние долговременной памяти.

У старых крыс наблюдалось почти десятикратное снижение уровня пролиферации клеток в субгранулярной зоне зубчатой извилины ($p<0.001$) по сравнению с молодыми животными. При этом число клеток, дифференцирующихся по нейрональному пути, было в восемнадцать раз ($p<0.001$), а число клеток, встроившихся в гранулярный слой, – почти в семь раз ($p<0.001$) ниже в группе 24-мес. животных по сравнению с группой 3-мес. Таким образом, старение было связано с резким замедлением процессов нейрогенеза в гиппокампе крыс. При

этом старые животные существенно не отличались от молодых по способности к обучению. Сходные закономерности были характерны и для субвентрикулярной герминативной зоны.

Нейрогенез в мозге взрослых животных находится под контролем многих регуляторных молекул, среди которых нейротрофины, нейромедиаторы, транскрипционные факторы. Мы показали, что у старых животных содержание нейротрофического фактора мозга (BDNF) практически не менялось в гиппокампе и неокортексе. В то же время содержание его мембранного рецептора TrkB снижалось. Таким образом, это могло способствовать снижению интенсивности нейрогенеза. Другим регулятором нейрогенеза является оксид азота (NO), который может тормозить процессы пролиферации и дифференцировки нейральных предшественников. Было обнаружено увеличение числа клеток, экспрессирующих нейрональную изоформу NO-синтазы в субгранулярной зоне зубчатой извилины. Это, по-видимому, также вносило определенный вклад в возрастное снижение нейрогенеза.

В заключение можно отметить, что связанное с возрастом изменение молекулярного состава микроокружения в гиппокампе способствует снижению нейрогенеза в этом отделе мозга, хотя это напрямую не влечет за собой существенного ухудшения когнитивных функций.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 22-015-00132).

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ Iba-1⁺-КЛЕТОК ЭПИФИЗА ЧЕЛОВЕКА.

Суфиева Д.А., Федорова Е.А., Яковлев В.С., Григорьев И.П., Коржевский Д.Э.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Эпифиз представляет собой непарную эндокринную железу, которая является основным источником гормона мелатонина в организме и играет важную роль во взаиморегуляции эндокринных желез. Основными клетками эпифиза, секретирующими гормоны, являются пинеалоциты. В паренхиме также локализуются глиальные клетки (астроциты и микроглия) и тучные клетки. Микроглия – клетки иммунной системы мозга – играют ключевую роль в защитных механизмах ЦНС, регулировании физиологических и патологических процессов в головном мозге. Тем не менее, исследования клеток микроглии эпифиза у грызунов и приматов стали предметом изучения относительно недавно, а микроглия пинеальной железы человека ранее не изучалась. В настоящее время общепризнанно, что микроглия представляет собой гетерогенную популяцию резидентных клеток ЦНС. В связи с этим, целью данного исследования стало проведение иммуногистохимического (ИГХ) исследования микроглии эпифиза человека.

Материалом для исследования служили образцы эпифиза головного мозга человека мужчин и женщин возрастом от 16 до 61 года (n=7) из архива отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины. Для ИГХ-исследования были использованы кроличьи поликлональные антитела к маркеру микроглии/макрофагов Iba-1 (Biocare medical, США). Визуализацию продукта реакции осуществляли с помощью 3,3'-диаминобензидина (набор DAB+, Dako, Дания).

Анализ результатов постановки ИГХ-реакции к Iba-1, продемонстрировал, что данный белок локализуется в телах и отростках клеток, что позволяет охарактеризовать их распределение. Было показано, что Iba-1⁺-клетки распределены неравномерно, и преимущественно локализуются в соединительнотканых трабекулах. Как правило, они располагаются в области кровеносных сосудов. В этом случае они имеют веретеновидную форму и два полярных длинных неветвящихся отростка, распластанных вдоль сосуда. В паренхиме эпифиза Iba-1⁺-клетки встречаются редко. Здесь они чаще всего представлены клетками овальной формы с разнонаправленными отростками. Встречаются округлые Iba-1⁺-

клетки либо без отростков, либо с короткими и толстыми отростками. При исследовании Iba-1⁺-клеток в эпифизе человека было обнаружено, что лишь небольшое число отдельных клеток располагаются рядом с кальцификатами и могут примыкать к нему.

Ткань эпифиза не является типичной нервной тканью. Паренхима эпифиза образована пинеалоцитами, имеющими нейральное происхождение, в то время как соединительнотканная капсула, окружающая эпифиз, формирует трабекулы внутри органа. Таким образом, Iba-1⁺-клетки, располагающиеся в паренхиме эпифиза, можно отнести к клеткам микроглии, а Iba-1⁺-клетки соединительнотканых трабекул, не относящихся к нервной ткани, скорее представляют популяцию тканевых макрофагов. Дальнейшие исследования с применением более широкой панели микроглиальных и макрофагальных маркеров позволят установить принадлежность Iba-1⁺-клеток разной локализации к тому или иному типу фагоцитирующих клеток (микроглии или макрофагов).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект No 22-25-20051, <https://rscf.ru/project/22-25-20051/>) и Санкт-Петербургского научного фонда (соглашение от 14.04.2022 г. No 47/2022).

АКТУАЛЬНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ДЕЙСТВИЯ 2-АГ НА СПОНТАННУЮ СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА В МОТОРНЫХ СИНАПСАХ МЫШИ

Тарасова Е.О., Чернышев К.А., Богачева П.О., Балежина О.П.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2-арахидоноил-глицерол (2-АГ) – сигнальное соединение, относящееся к эндоканнабиноидам. В центральной нервной системе 2-АГ выполняет роль ретроградного регулятора синаптической активности, который, выделяясь из постсинаптического нейрона, как правило, тормозит секрецию медиатора из пресинаптических окончаний за счёт действия на расположенные там рецепторы СВ1-типа.

В нервно-мышечных синапсах млекопитающих 2-АГ, наоборот, способен усиливать спонтанную секрецию ацетилхолина (АХ), что выражается в увеличении амплитуды миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП). Целью данной работы было установить механизмы такого потенцирующего действия 2-АГ на секрецию АХ в моторных синапсах мышцы.

Исследование проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмы мышцы с использованием стандартного микроэлектродного метода отведения биопотенциалов. Регистрировали спонтанные миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП), в каждой серии экспериментов использовалось как минимум 3 экспериментальных животных. Обращение с животными соответствовало директиве 86/609/ЕЕС. Протокол эксперимента был одобрен комиссией по биоэтике биологического факультета МГУ.

В моторных синапсах мышцы 2-АГ приводит к увеличению амплитуды МПКП на 50% за счет увеличения размера кванта АХ. Как оказалось, для реализации данного эффекта необходима активность РКА, поскольку на фоне ингибирования РКА при помощи Н-89 (1 мкМ) не наблюдалось увеличения амплитуды МПКП под действием 2-АГ. Как было показано ранее, схожим действием в нервно-мышечных синапсах мышцы обладает кальцитонин генеродственный пептид (КГРП), присутствующий в нервных терминалях в составе электронно-плотных везикул. При его экзогенной аппликации увеличивается размер кванта АХ, причем данный эффект является РКА-зависимым. Поэтому мы предположили, что эффекты 2-АГ и КГРП могут быть взаимосвязаны.

Действительно, блокирование КГРП-рецепторов при помощи КГРП8-37 (1 мкМ) полностью предотвращало увеличение амплитуды МПКП за счёт 2-АГ (1 мкМ). Интересно, что при этом блокатор СВ1-рецепторов AM 251 (1 мкМ), не позволяющий развиваться эффектам

2-АГ в моторных синапсах мышцы, оказался не способен повлиять на прирост амплитуды МПКП на фоне экзогенной аппликации КГРП (1 мкМ). Исходя из этого, в сигнальном пути, приводящем к потенциации секреции АХ, сначала должна происходить активация СВ-рецепторов со стороны 2-АГ, за счёт чего инициируется экзоцитоз КГРП. А уже его рецепторное действие приводит к увеличению размера квантов АХ с участием РКА.

Таким образом, в моторных синапсах мышцы 2-АГ оказывает не прямое, а опосредованное КГРП, потенцирующее действие на размер кванта АХ. При действии экзогенно апплицируемого 2-АГ происходит выброс эндогенно КГРП в синаптическую щель и активация его пресинаптических рецепторов, которая через РКА-зависимые механизмы приводит к усилению спонтанной секреции АХ в нервно-мышечных синапсах мышцы.

Работа поддержана грантом РФФ 23-25-00065.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА У МОЛОДЫХ ЛЮДЕЙ С ИНТЕРНЕТ-АДДИКЦИЕЙ

Толстогузов С.Н., Машкина С.А., Найда Ю.В.

Тюменский государственный университет, Кафедра анатомии и физиологии человека и животных, Тюмень, Россия

Понятие интернет-зависимости (Internet addiction disorder – IAD), как и само явление данного вида нехимической аддикции возникло относительно недавно. В начале XXI века о нем все чаще стали публиковать результаты психологических и социологических исследований девиантного поведения. Особенно масштабно его стали фиксировать с распространением мобильных гаджетов, подключенных к сети Интернет. Следует отметить, что нейрофизиологических исследований явления интернет-зависимости весьма немного, и это определяет актуальность настоящей работы.

Целью работы являлось выявление специфических паттернов биоэлектрической активности головного мозга у молодых людей с интернет-аддикцией.

В исследовании приняли участие 75 студентов (33 юноши и 42 девушки) 1 – 3 курсов очной формы обучения Тюменского государственного университета, постоянно проживающих на территории Тюменской области. Медианный возраст студентов составил $21,35 \pm 1,76$ лет. Критериями включения служили: добровольное информационное согласие, 1–2 группа диспансерного наблюдения; критериями исключения являлись наличие в анамнезе неврологических нарушений и обострение заболеваний любых нозологий в последние две недели перед исследованием. Интернет-аддикцию определяли методом Чена (CIAS) в адаптации В.Л. Малыгина. Вся выборка была поделена на три группы: интернет-независимые, группа риска и лица с интернет-аддикцией. Электроэнцефалограмму (ЭЭГ) фиксировали с помощью аппаратно-программного комплекса «Нейрон-Спектр-4/ВПМ», Россия.

В состоянии покоя (фоновая запись) визуально определяли тип ЭЭГ (по классификации Е.А. Жирмунской). В группах контроля и интернет-зависимых выборки были представлены преимущественно I типом организованной (нормальной) ЭЭГ с выраженным α -ритмом, имеющим четкий лобно-затылочный градиент – 76% и 83% испытуемых соответственно. В данных группах был представлен и III тип ЭЭГ, имеющий низкоамплитудную биоэлектрическую активность с отсутствием или резким уменьшением количества α -волн – 24% и 17% соответственно. Другие типы ЭЭГ в группах контроля и интернет-зависимых зафиксированы не были. В группе с риском интернет-зависимого поведения зафиксированы три типа ЭЭГ со следующим распределением: I тип – 70%, III тип – 12%, II тип – гиперсинхронный (моноритмичный) с преобладанием по всем областям мозга β -активности

низкой частоты или ритмизированной (без зонального градиента) θ -активности – 18 %. Дезорганизованных IV и V типов ЭЭГ ни в одной из выборок не встречалось.

При анализе мощности α -ритма в группах с риском интернет-аддикции и интернет-зависимых было отмечено достоверно ($p < 0,05$) более высокое значение по сравнению с контролем в правых теменных P_4 , затылочных O_2 , центральных C_4 и задневисочных T_8 отделах. Подобные проявления корковой α -ритмики в правом полушарии могут свидетельствовать о дезорганизующих воздействиях со стороны мезэнцефальных активирующих структур мозга и ретикулярной формации, а также об определенном нарушении баланса между активирующими и синхронизирующими влияниями лимбико-ретикулярного комплекса у испытуемых с риском интернет-аддикции и интернет-зависимых.

Медленноволновая активность δ - и θ -диапазонов в группе интернет-зависимых имела диффузный характер без четко выраженного зонального градиента, что могло указывать на снижение уровня бодрствования и дисбаланс торможения и возбуждения в центральной нервной системе аддиктов. Быстроволновая β -активность не имела характерных групповых особенностей.

В целом спектральный анализ фоновой ЭЭГ указывал на определенную дезорганизацию электрической активности мозга у лиц с интернет-аддикцией.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОЭКСПРЕССИИ СИНАПТОФИЗИНА И PSD95 В МОТОНЕЙРОНАХ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА СПИННОГО МОЗГА КРЫС НА РАННИХ ЭТАПАХ ОПОРНОЙ РАЗГРУЗКИ И РЕАДАПТАЦИИ

Тяпкина О.В.^{1,2}, Мустакимов С.Р.², Ялтаева С.А.², Нуруллин Л.Ф.^{1,2}

¹ – Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия

² – Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

Важным для понимания формирования гипогравитационного двигательного синдрома (ГДС) и восстановления является изучение изменений во всех звеньях локомоторного аппарата, однако наименее охарактеризованными остаются реакции спинного мозга, где находятся мотонейроны, иннервирующие и контролируемые свойства скелетных мышц.

С помощью иммунофлуоресцентного метода оценивали уровень экспрессии белка синаптофизина (белок пресинаптической мембраны, участвующий в экзо- и эндоцитозе) и PSD95 (белок постсинаптической плотности) в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга контрольных и подопытных крыс после антиортостатического вывешивания задних конечностей (АОВ) на 12, 24 часа и 3, 7 суток, а также в условиях реадaptации 12, 24 часа и 3, 7 суток после 7-суточного вывешивания. Все процедуры с животными одобрены Комиссией по Биоэтике Федерального исследовательского центра Казанского научного центра Российской академии наук (протокол № 12-3 от 28.02.2023 г.).

Для окрашивания криостатных поперечных срезов поясничного отдела спинного мозга (20 мкм) использовали первичные антитела к синаптофизину и PSD95 и вторичные антитела. Изображения получали на конфокальном микроскопе Leica TCS SP5 MP, анализировали интенсивность флуоресценции в мотонейронах передних рогов поясничного отдела спинного мозга в программе ImageJ. Статистический анализ проводили в программе Origin 8.0 (U-критерий Манна-Уитни и непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса при $p \leq 0,05$).

Анализ интенсивности флуоресценции после окрашивания мотонейронов антителами к синаптофизину показал её снижение на 12% к 3 суткам АОВ и увеличение на 31% к 7 суткам

АОВ по сравнению с значениями, зарегистрированными у контрольных крыс ($p < 0.05$). В ходе реадaptации установлено увеличение флюоресценции с 24 часов до 3 суток восстановления на 18% и снижение на 15% к 7 суткам, по сравнению с контролем ($p < 0.05$).

После окрашивания мотонейронов антителами к PSD95 интенсивность флюоресцентного свечения была понижена у крыс после 12 часов и 7 суток АОВ на 22% и увеличена на 20% на 1 и 3 сутки АОВ по сравнению с контрольными значениями ($p < 0.05$). У животных, находившихся в условиях реадaptации было выявлено увеличение через 12 часов восстановления на 22% и снижение к 7 суткам 40% в сравнении с контролем ($p < 0.05$).

Таким образом, изменение интенсивности флюоресценции в мотонейронах поясничного утолщения спинного мозга после окрашивания антителами к синаптофизину и PSD95 свидетельствует об изменении количества этих белков, что может отразиться на реализации синаптической передачи между клетками как в ходе развития гиповегетационного двигательного синдрома, так и в ходе реадaptации.

Исследование проведено в рамках Госзадания ФИЦ КазНЦ РАН.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ ПОВЕДЕНЧЕСКОГО ОПЫТА: ОТ СИСТЕМНЫХ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ АЛГОРИТМОВ К НЕЙРОБИОЛОГИИ ПОВЕДЕНИЯ

Умрюхин А.Е.

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Россия*

Активное предсказательное целеполагание живых объектов в динамике возрастного развития структуры индивидуальных мотивационных запросов на основе механизмов формирования, реализации и расширения траектории индивидуального опыта представляет алгоритмы психофизиологии поведения и психосоматических реакций. Важным аспектом анализа физиологических процессов служит представление организма в качестве активного участника с собственной целенаправленной деятельностью, осуществляемой во внешних и внутренних условиях на основе предвидения будущих событий с учётом результативности сформированных элементов индивидуального опыта. Системообразующим фактором в физиологических взаимодействиях выступает полезный целенаправленный результат деятельности живого организма, для достижения которого организуется взаимодействие доступных организму физиологических реакций, закрепляемых стадийно в процессе формирования индивидуального опыта.

Современные представления о нейробиологии мотиваций и их реализациях в поведенческом континууме позволяют раскрыть механизмы физиологических реакций различного временного порядка в структуре непрерывной жизнедеятельности. Физиологические процессы организма имеют иерархическое распределение по уровню их результативности пропорционально объёму реализуемых реакций, в соответствии с которыми осуществляется их регуляция на соответствующих уровнях. Нейрохимические процессы в соответствии с пространственными и временными характеристиками можно разделить на быстрые синаптические коммуникации и несинаптические диффузные, или объёмные, механизмы взаимодействия элементов нервной системы. Дофаминергическая нейротрансмиссия обеспечивает реализацию как быстрых фазических процессов, важных для координирующего предсказательного обеспечения деятельности и обучения, так и протяжённых во времени тонических функций, имеющих значение для долгосрочного поддержания активности и мотивационного обеспечения. Особенности дофаминергической нейротрансмиссии могут быть интерпретированы на основе анализа целеполагания

экспериментального животного, его прогноза о вероятности достижения результата и оценки соответствия достигнутого результата ожидаемому.

РЕАКЦИЯ АСТРОЦИТОВ И НЕЙРОНАЛЬНЫХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ГИППОКАМПА НА ГИПОКСИЮ

Федорова Е.Н.², Воронков Д.Н.¹, Егорова А.В.^{1,2}, Германова Э.Л.³, Лукьянова Л.Д.³,
Сухоруков В.С.^{1,2}

¹ – ФГБНУ Научный центр неврологии, Москва, Россия

² – РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

³ – ФГБНУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

Введение. Гиппокамп, играющий ключевую роль в когнитивных процессах, является одной из наиболее уязвимых к гипоксии структур мозга. Нейрогенная ниша субгранулярной зоны гиппокампа (SGZ) отличается особенностями нейроглиальных и нейроваскулярных взаимодействий. Для нервных клеток данной области особенно важна реализация адаптационных механизмов, среди которых – реакция астроглии, обеспечивающей метаболическую поддержку нейронов, в том числе, с помощью глутамин-глутаматного пути, связанного как с обменом медиаторов, так и с энергетическим метаболизмом. Изучение ответа нейронов и глии гиппокампа на гипоксию позволит выявить новые терапевтические мишени для разработки эффективных стратегий нейропротекции и нейрорегенерации.

Цель исследования: оценить локализацию нейрональных и глиальных маркеров изменений энергообмена и процесса дифференцировки клеток гиппокампа в зубчатой извилине гиппокампа мозга крыс на модели периодической гипоксии.

Материалы и методы. Четыре группы крыс (n=20) подвергались умеренной гипобарической (5000 м) гипоксии, однократно (60 мин) и многократно (8 и 20 эпизодов гипоксии по 60 мин ежедневно). Контролем служили интактные крысы. Манипуляции с животными соответствовали принципам Базельской декларации, этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ и рекомендациям биоэтического комитета ФГБНУ НЦН. В слоях гиппокампа иммунофлуоресцентным методом выявляли GS+ и GFAP+ астроциты и DCX+ незрелые нейроны. С помощью программ Leica QWin и ImageJ оценивали плотность клеток и интенсивность окрашивания. Статистическую обработку выполняли в программе GraphPad Prism, используя дисперсионный анализ.

Результаты. Астроциты реагировали на гипоксию изменениями как экспрессии, так и локализации GS. Средняя интенсивность иммуноокрашивания на GS значительно увеличивалась после 8 эпизодов как в полиморфном (p<0.05, на 30% по сравнению с контролем), так и в молекулярном (p<0.05, на 37% по сравнению с контролем) слоях, а при 20 эпизодах снижалась, достигая контрольных значений. Кроме того, гипоксия приводила к изменениям соотношения содержания GS в соме и отростках астроцитов, что говорит о перераспределении фермента в астроцитах в зависимости от их функционального состояния. Эти данные также согласуются с выявленным увеличением площади, занимаемой GFAP+ астроцитами в молекулярном слое (с 3,3% в контроле до 4,4% при 8 эпизодах, p <0,05). Значимое снижение плотности DCX+ нейронов в SGZ отмечалось лишь после 20 эпизодов гипоксии (на 70% по сравнению с контролем, p <0.001) и не отличалось от контроля при остром и восьмикратном гипоксическом воздействии. При этом в полиморфном слое зубчатой извилины гиппокампа было обнаружено увеличение количества DCX+ клеток глиальной морфологии, что может быть обусловлено сдвигом дифференцировки нейрональных предшественников в направлении астроглии. Последнее косвенно согласуется с выявленным при окрашивании на GFAP увеличением количества GFAP+ астроцитов в полиморфном слое.

Выводы. Таким образом, адаптационные механизмы при периодической гипоксии связаны с реакцией астроглии и модуляцией глутаматергического обмена и характеризуются повышением GS после 8 эпизодов гипоксии, а также перераспределением фермента в отростках астроцитов при остром и многократном гипоксическом воздействии. Двадцатикратное гипоксическое воздействие приводит к изменению процесса созревания клеток и дифференцировки нейрональных предшественников.

ДВИГАТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦИЛИАРНОГО АППАРАТА ЭПЕНДИМЫ ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ

Павлов А.В.¹, Фоканова О.А.¹, Ермакова О.В.², Кораблева Т.В.¹

¹ – Ярославский государственный медицинский университет ¹, Ярославль, Россия

² – Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Россия

В наших предыдущих исследованиях выявлены эффекты хронического низкоинтенсивного γ -излучения на двигательную активность цилиарного аппарата (ДАЦА) воздухоносных путей и маточных труб (Ермакова О.В. с соавт., 2014; Павлов А.В. с соавт., 2023). Однако влияние данного фактора на ДАЦА эпендимной выстилки желудочков головного мозга (ЖГМ), играющей существенную роль в транспорте спинномозговой жидкости и регуляции метаболизма тканей головного мозга, продолжает оставаться неизученным.

С помощью комплексной методики прижизненного микроскопического наблюдения (Павлов А.В. с соавт., 2019) изучена двигательная активность цилиарного аппарата и морфометрические характеристики (частота биения ресничек – ЧБР, длина ресничек – ДР, высота клетки – ВК, скорость цилиарного транспорта жидкости в пристеночном слое – $V_{тр}$, длительность фазы удара ресничек – $t_{уд}$) эпендимной выстилки бокового, III и IV (БЖ, IIIЖ, IVЖ) желудочков и водопровода (Вп) головного мозга 15 половозрелых крыс Вистар массой 160 – 180 г, подвергнутых экспериментальному хроническому γ -облучению на протяжении 30 сут. (суммарные поглощенные дозы – 0,05 и 0,5 Гр) и 5 контрольных животных, находившихся в условиях естественного радиационного фона.

По сравнению с контролем у облученных крыс средние значения частоты биения ресничек эпендимоцитов БЖ и IIIЖ имели тенденцию к снижению ($p < 0,1$). Эффекты γ -облучения в выстилке IVЖ и Вп оказались более выражены: снижение ЧБР на 22 – 45% (5 сГр) и 25 – 35% (50 сГр), $p < 0,05$. Вышеописанные изменения средних значений обусловлены не равномерным уменьшением ДАЦА на уровне пласта, а появлением очагов резкого снижения (вплоть до полной остановки) мерцательной активности ресничек. По сравнению с животными, содержащимися в условиях естественного радиационного фона, при облучении в дозах 5 и 50 сГр обнаружено статистически достоверное снижение средней высоты эпендимоцитов на 16 – 28%, в IVЖ и на 15 – 24% – в Вп ($p < 0,05$).

Однако, несмотря на развитие признаков дисфункции эпендимной выстилки, скорость цилиарного транспорта жидкости в пристеночном слое в обеих опытных группах существенно возросла, особенно в отделах, ответственных за образование ликвора – БЖ и IIIЖ (от 20 до 62%). Визуальный анализ видеофайлов свидетельствует об изменении характера движения частиц от ламинарного (контроль) до турбулентного (опыт). Наблюдаемое возрастание $V_{тр}$ может быть объяснено пропорциональным увеличением продолжительности фазы единичного удара ресничек ($t_{уд}$) у облученных животных; в конечном итоге, это обеспечивает рост суммарной эффективности работы пласта. Данный феномен является компенсаторной

реакцией, направленной на сохранение необходимого уровня функциональной активности поврежденной эпендимной выстилки ЖГМ.

Таким образом, хроническое низкоинтенсивное γ -облучение в поглощенных дозах 5 и 50 сГр способно индуцировать атрофические перестройки и дисфункцию мерцательного аппарата эпендимоцитов и, тем самым, может являться потенциальным фактором риска, способным негативно влиять на структуру и функцию эпендимной выстилки системы желудочков головного мозга.

Настоящая работа выполнена в рамках действующего Договора о научно-техническом сотрудничестве между ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России и ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (№01/2633 от 29.12.2021 г.).

ЭФФЕКТЫ ИОНОВ ЦИНКА НА ПАРАМЕТРЫ СЕКРЕЦИИ НЕЙРОМЕДИАТОРА В ДИАФРАГМЕ МЫШИ

Хазиев А.Н. Ценцевицкий А.Н, Петров А.М.

КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Цинк – микроэлемент, необходимый для работы многих ферментов и сигнальных молекул. Около 30% человеческого генома кодируют цинк-связывающие белки. В нейронах ионы цинка участвуют в передаче внутриклеточных сигналов, в частности, в высоких концентрациях цинк присутствует в синаптических везикулах. В результате экзоцитоза синаптических везикул концентрация цинка в синаптической щели может достигать нескольких сот микромолей. На синаптических мембранах выявлены разнообразные чувствительные к ионам цинка трансмембранные белки, в том числе принадлежащие к семейству сопряженных с G-белками рецепторов.

В ходе электрофизиологических исследований на нейромышечном препарате диафрагмы мышцы было обнаружено, что наличие Zn во внеклеточной среде (в концентрациях 1 нМ, 10 нМ и 1 мкМ) приводит к снижению квантового состава вызванной секреции нейромедиатора ацетилхолина. Снижается также и частота спонтанной секреции. В то же время достоверного влияния цинка на временные параметры секреции (кинетику освобождения квантов нейромедиатора) обнаружено не было. Таким образом, цинк может выступать негативным регулятором синаптической передачи даже в наномолярных концентрациях.

Одним из путей действия ионов цинка на синаптическую передачу может быть изменение окислительно-восстановительных процессов. С помощью флуоресцентного зонда на активные формы кислорода (АФК) было показано, что добавление цинка (10 нМ) во внеклеточный раствор приводит к увеличению продукции АФК, причем в той степени, в которой этот эффект оказывает кадмий, известный прооксидант и нейротоксин. В дальнейшем предполагается выяснение связи этого явления с угнетением секреции нейромедиатора.

Ионы двухвалентных металлов, в особенности цинк, могут изменять свойства плазматических мембран, связываясь с анионными липидами. Действительно, было обнаружено, что цинк в высокой концентрации (100 мкМ) уменьшает маркирование синаптических мембран субъединицей В холерного токсина, меткой на липидные рафты, что может указывать на нарушение упаковки мембранных липидов.

Таким образом, ионы цинка в низких концентрациях способны снижать спонтанную и вызванную нейросекрецию, а также увеличивать продукцию АФК. В высоких концентрациях ионы цинка могут влиять на свойства мембран в нервно-мышечном препарате.

Протокол эксперимента одобрен локальным этическим комитетом КИББ КазНЦ РАН, и соответствует биоэтическими правилами и документам. Работа поддержана грантов РФФ 21-14-00044.

ОСОБЕННОСТИ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ «МЕДЛЕННОГО» ТИПА

Хузахметова В.Ф., Сибгатуллина Г.В., Дмитриева С.А., Петров А.М., Бухараева Э.А.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань, Россия

Длительное время считалось, что симпатическая иннервация скелетных мышц ограничена только кровеносными сосудами. Однако обнаружение такой иннервации в интра- и экстрафузальных волокнах камбаловидной мышцы (*m. soleus*), длинного разгибателя пальцев (*m. EDL*), диафрагмальной и других поперечно-полосатых мышц вызвало большой интерес к изучению роли постганглионарных симпатических аксонов и их нейромедиаторов в регуляции функций нервно-мышечных контактов в мышцах разного функционального профиля. Камбаловидная мышца (*m. soleus*) – одна из немногих мышц млекопитающих, которая содержит преимущественно медленно сокращающиеся волокна II типа и имеет плотность капилляров в два раза большую, чем фазные мышцы. Эксперименты проводили согласно протоколу ухода за животными и требованиям Директивы Совета Европейского сообщества 86/609/ЕЕС и были одобрены комиссией по биоэтике ФИЦ КазНЦ РАН (протокол № 23-1/23-2/2 от 28 февраля 2023 г).

Нами было установлено, что в постуральной *m. soleus* симпатические нервные окончания, нагруженные флуоресцентным ложным нейромедиатором FFN511, и моторные нервные окончания, визуализированные специфическим красителем FM1-43, находятся в непосредственной близости. В этих препаратах был также обнаружен близкий контакт нервно-мышечного синапса и специфических антител к тирозингидроксилазе – ферменту, обеспечивающему синтез катехоламинов. Последующее определение содержания эндогенных катехоламинов с помощью иммуноферментного анализа в растворах, омывающих нервно-мышечные препараты и гомогенаты *m. soleus*, показало, что концентрация норадреналина была существенно выше, чем адреналина. Однако в условиях стресса количество эндогенного адреналина становилось преобладающим.

Проведенное электрофизиологическое исследование эффектов адреналина (АД) в синапсах *m. soleus* на параметры квантовой секреции ацетилхолина показало, что АД вызывает увеличение интенсивности спонтанной и вызванной секреции квантов нейромедиатора и повышение степени синхронности моментов выделения квантов. В присутствии блокаторов ферментных систем аксоплазмы, которые могут опосредовать эффекты катехоламинов, аденилатциклазы (SQ22536) и протеинкиназы С (хелеритрин) АД продолжал повышать уровень секреции квантов медиатора. Однако блокада фосфолипазы С при действии U73122 приводила к уменьшению эффекта АД на интенсивность вызванного освобождения квантов ацетилхолина и предотвращала его синхронизирующее действие. Это указывает на участие фосфолипазы С в реализации эффектов АД, которые развиваются после активации адренорецепторов. Наличие таких рецепторов в нервно-мышечных препаратах *m. soleus* было установлено с помощью окрашивания специфическими антителами к адренорецепторам.

Все полученные данные свидетельствуют о существенном регуляторном действии АД и его аналогов, активирующих разные подтипы адренорецепторов, на процессы функционирования нервно-мышечного соединения в локомоторной мышце. Это необходимо учитывать при использовании различных фармакологических средств – симпатомиметиков и адреноблокаторов, широко применяемых в клинике сердечных и легочных заболеваний, а также при местной анестезии. Изменение содержания эндогенных катехоламинов при различных физиологических условиях позволяет прояснить картину возникающих в этих ситуациях нарушений двигательной активности.

Работа поддержана грантом РФФИ 23-15-00124.

РАННЕЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА ФРУКТОЗНОЙ НАГРУЗКОЙ ПРИВОДИТ К ДИСФУНКЦИИ АРТЕРИЙ С УСИЛЕНИЕМ НЕЙРОГЕННОГО ТОНУСА СОСУДОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА

И.А. Царева

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: tsarevaia@infran.ru*

Введение. Метаболический синдром (МС) – мировая медико-социальная проблема, данное состояние прогрессирует и выявляется не только у взрослых, но и у детей и подростков (6 – 10%).

Цель. Исследование ранних функциональных изменений в артериях и сосудах МЦР молодых крыс при моделировании МС с использованием фруктозной нагрузки.

Ключевые слова: метаболический синдром, нейрогенный тонус артерий, эндотелиальная дисфункция, лазерная доплеровская флоуметрия, фруктозная нагрузка.

Материалы и методы. Все манипуляции с животными соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципами Базельской декларации. Протокол исследований одобрен этической комиссией Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Группа крыс линии Wistar с возраста 4 недель получала фруктозную нагрузку в питьевой воде (high-fructose diet (HFrD) на протяжении 16 недель. В исследовании определяли уровень гликемии, проводили тесты на инсулинорезистентность (ИР) и глюкозотолерантный тест (ГТТ). Кровоток в МЦР кожи измеряли методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), а реактивность брыжеечных артерий – посредством микровидеосъемки *in vivo*,

Результаты. Через четыре недели фруктозной нагрузки концентрация глюкозы в группе HFrD достоверно повысилась и не снижалась на протяжении эксперимента. Выявлены гликемия при проведении ГТТ и теста на ИР, а также выраженная дислипидемия. Инсулинорезистентность, характерная для МС, в данном исследовании приводила к достоверному повышению САД и ДАД, вызванному активацией симпатической нервной системы. Установлено, что фенилэфрин-индуцированная констрикция брыжеечных артерий крыс HFrD была значительно большей по сравнению с контрольной группой, что может свидетельствовать об увеличении плотности α -адренорецепторов на мембране гладкомышечных клеток (ГМК) артерий или стимуляции в ГМК сигнальных путей, активируемых α -адренорецепторами. Выявлено снижение амплитуды ацетилхолин (АХ)-индуцированной и нитропруссид (НП) – вызванной дилатации брыжеечных артерий крыс HFrD. В микроциркуляторном русле кожи крыс HFrD зарегистрировано достоверное повышение нейрогенного тонуса и ослабление эндотелий-зависимого тонуса микрососудов.

Заключение. У крыс HFrD выявлены признаки МС: артериальная гипертензия, гипергликемия, ИР, дислипидемия. В брыжеечных артериях этих крыс показано повышение адренореактивности и ослабление АХ-индуцированной дилатации. Снижение амплитуды АХ-индуцируемой гиперемии в коже является подтверждением развивающейся эндотелиальной дисфункции в микрососудах кожи у крыс HFrD.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что МС, индуцированный фруктозной нагрузкой у молодых крыс, сопровождается не только развитием дисфункционального состояния артерий и сосудов МЦР, но и повышением активности симпатической нервной системы, что проявляется в виде артериальной гипертензии, усилении фенилэфрин-индуцированной констрикции артерий и повышении нейрогенного тонуса сосудов МЦР.

ОСОБЕННОСТИ СИМПАТИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ СТЕНКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПАТОЛОГИИ

Чумасов Е.И.^{1,2}, Самедов В.Б.³, Петрова Е.С.¹, Коржевский Д.Э.¹

¹ – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия

² – Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, г. Санкт-Петербург, Россия

³ – Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования – выяснить распределение и структурные особенности симпатической иннервации тканей стенки кишки крысы и человека с помощью иммуногистохимических методов. Изучение сегментов кишечника толстой кишки крысы Вистар ($n=5$) и ободочной и сигмовидной кишки, полученных в результате хирургического лечения больных тяжелой формой хронического медленно-транзитного запора (ХМТЗ) (5 случаев) проводилось с использованием нейральных маркеров (белка РGR 9.5, тирозингидроксилазы, синаптофизина). Исследования на лабораторных животных проводились с учетом международных правил Европейской декларации о гуманном обращении с животными. Работа одобрена этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ» (протокол № 2/22 от 06.04.2022).

Иммуногистохимический анализ позволил установить, что большинство нервных структур стенки кишки являются холинергическими. РGR 9.5-иммунореактивные холинергические нервные аппараты присутствуют в тканях всех трех оболочек стенки кишки и ответственны за многие функции (пищеварение, эвакуация и обмен органических веществ, секреторная, барьерная функции, за различные типы перистальтики), в то время, как симпатические – в основном осуществляют регуляцию холинергических рефлексов через нейроны Ауэрбахова и Мейснера сплетений, стимулируя или ингибируя их активность, а также отвечают за нейротрофику. Основная масса постганглионарных симпатических нервных волокон в стенке толстого кишечника крысы и человека локализуется в Ауэрбаховом и Мейснеровом сплетениях. Их терминальные аксоны образуют вокруг холинергических нейронов перицеллюлярные синаптические аппараты. Другая часть симпатических волокон участвует в иннервации мышечной пластинки слизистой оболочки и стенки венозных сосудов подслизистой оболочки; их терминальные варикозные аксоны закачиваются на гладкомышечных клетках дистантными синапсами *en passant*.

У больных ХМТЗ установлены существенные особенности нарушения симпатической иннервации толстого кишечника; обнаружены морфологические признаки реактивных, дистрофических и тяжелых дегенеративных изменений симпатических аппаратов в ганглиозных сплетениях. Выявлены закономерности отсутствия симпатической иннервации в двух основных мышечных слоях (продольном и циркулярном), а также в слизистой оболочке. В изученных отделах толстого кишечника симпатические нейроны не обнаружены. Предполагается, что выявленные патологические изменения симпатической иннервации при ХМТЗ могут служить одной из причин нарушения локомоторной функции кишечника.

БИОХИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТАВА ПЛАЗМЫ КРОВИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ВНУТРИГИПОТАЛАМИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ И МИМЕТИКОВ МИРНК

Ширина Е.С., Панкрашева Л.Г., Анфимова П.А., Порсева В.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Актуальность. Существует предположение об участии гипоталамуса в механизмах старения, при этом важная роль отводится средней группе ядер, включая дорсомедиальное ядро гипоталамуса (ДМЯ).

Цель исследования. Оценить влияние ингибиторов и миметиков микроРНК let-7a-5p, miR-9a-3p, miR-132-3p, miR-218a-5p спустя 60 дней после их введения в ДМЯ на маркеры возрастных изменений (С-реактивного белка и миоглобина, а также фактора роста фибробластов) в плазме крови у молодых и старых самцов и самок.

Материалы и методы. Работа выполнялась на 3 месячных (юные) и 2 – 2,5 летних крысах (старые) самцах в контроле, а также после введения ингибиторов и миметиков микроРНК в ДМЯ. Было использовано 37 крыс. При проведении работ были соблюдены все биоэтические правила. Животные, находясь на самостоятельном дыхании, наркотизировались и закреплялись в стереотаксической установке. Иглу микрошприца погружали в ткань мозга согласно стереотаксическим координатам: AP – 3,1 от брегмы, ML – 0,7, DV – 8,5 от поверхности черепа.

Были выделены две опытные группы, одной проводили введение смеси ингибиторов, другой – смесь миметиков микроРНК. Для каждого возраста выделялись две контрольные группы: в первой вводилась стерильная искусственная СМЖ, во второй – бессмысловая микроРНК, в том же объеме, что и опытным группам. Сразу после введения препаратов забирали 0.5 мл крови. Окончательный забор крови проводили спустя 60 суток, после эвтаназии. Определяли уровень биохимических маркеров старения при помощи ИФА в соответствии с протоколом производителя. Математическая обработка данных проведена с использованием Sigma Plot. Все величины представлены как средняя арифметическая \pm ошибка среднего. Достоверность различий средних величин определяли с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с коррекцией Бонферрони. Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. У старых самцов при введении ингибиторов микроРНК СРБ достоверно возрастал до $93 \pm 11,6$ нг/мл, а содержание миоглобина достоверно снижалось до $48 \pm 9,3$ нг/мл. У старых самцов и самок при введении ингибиторов микроРНК содержание фактора роста фибробластов FGF 21 достоверно возрастало до $313 \pm 27,5$ и $228 \pm 24,6$ пг/мл соответственно. При введении миметиков микроРНК у старых самцов и самок достоверно возрастал уровень миоглобина до $188 \pm 17,3$ нг/мл и до $155 \pm 12,7$ нг/мл соответственно, а уровень FGF 21 достоверно не изменялся по сравнению с контрольными группами.

Выводы. Инъекция ингибиторов микроРНК в ДМЯ спустя 60 суток приводила к достоверному увеличению содержания С-реактивного белка, а также снижению миоглобина преимущественно у старых самцов. Введение же миметиков микроРНК оказывало противоположные, антивозрастные эффекты.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-25-00141).

АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ G-БЕЛОК-СОПРЯЖЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ: ОТ РАЗНООБРАЗИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ДО МНОЖЕСТВЕННОСТИ САЙТОВ И ЛИГАНДОВ

Шпаков А.О.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, Российская академия наук, Санкт-Петербург, Россия

Аллостерическая регуляция играет ключевую роль для функционирования рецепторов, сопряженных с гетеротримерными G-белками (GPCR), и зависимых от них внутриклеточных сигнальных каскадов, как в центральной нервной системе, так и на периферии. В качестве эндогенных аллостерических регуляторов GPCR могут выступать протоны, ионы металлов, липиды, аминокислоты, пептиды, некоторые стероидные гормоны, а также значительные по размеру белковые молекулы, включая аутоантитела к внеклеточным участкам GPCR. Отдельную, «специализированную» группу аллостерических регуляторов представляют трансдукторные и регуляторные белки, образующие функционально активные комплексы с GPCR, такие как G-белки, β -аррестины и белки, модифицирующие активность рецепторов (RAMP). Важную роль, по крайней мере, для определенной части GPCR (класс C, некоторые представители класса A), играет процесс образования гомо- и гетеро(олиго)мерных комплексов, в которых протомеры, образуя между собой множественные контакты, аллостерически влияют как на процесс связывания ортостерического лиганда, так и на эффективность и специфичность клеточного ответа. Сложность и многообразие аллостерических эффектов, вызываемых многочисленными регуляторами, различающимися по структуре, биодоступности и механизмам действия, предопределяет множественность и различную топологию аллостерических сайтов в молекулах GPCR. Эти сайты могут располагаться в следующих локусах рецепторов: (1) во внеклеточных петлях, где во многих GPCR локализованы участки, вовлеченные в опознавание и низкоаффинное связывание эндогенных лигандов; (2) внутри трансмембранного тоннеля и в его верхних и нижних преддвериях, где в большинстве GPCR располагаются высокоаффинные ортостерические сайты; (3) во внутриклеточных петлях и в цитоплазматическом C-концевом домене, которые функционально взаимодействуют с G-белками и β -аррестинами, определяя передачу сигнала с активированного рецептора к внутриклеточным эффекторам; (4) на внешней поверхности трансмембранного домена, которая контактирует с мембраной и опосредует влияние мембранных липидов на структурно-функциональную организацию GPCR. Следует отметить, что внеклеточные петли и внешняя поверхность трансмембранного домена также вовлечены в формирование GPCR-комплексов. Если ортостерический сайт в молекуле GPCR один, то число аллостерических сайтов обычно достигает 8 – 12, что продемонстрировано для различных классов GPCR. Эти сайты выявляются как с помощью экспериментальных подходов, так и с использованием методов молекулярного докинга, позволяющих детектировать в молекулах рецепторов «орфанные» аллостерические сайты, для которых в настоящее время еще не найдены аллостерические регуляторы. В отличие от ортостерических агонистов, аллостерические регуляторы в большинстве своем действуют более мягко и высоко специфичны по отношению к внутриклеточным каскадам, что открывает широкие возможности для разработки на их основе лекарственных препаратов. В настоящее время имеется немало примеров успешного создания фармакологических препаратов на основе аллостерических регуляторов GPCR. Для некоторых рецепторов разработка лигандов аллостерических сайтов является практически безальтернативным подходом для фармакологической регуляции их активности.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект № 19-75-20122).

ВВЕДЕНИЕ ДОНОРА H₂S УГНЕТАЕТ РАЗВИТИЕ ФЛУРОТИЛ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС С ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф.

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

Повышение уровня гомоцистеина (ГЦ) во время беременности (пренатальная гипергомоцистеинемия, ГГЦ) приводит к различным осложнениям беременности, гипоксии плода и как следствие, развитию ранних и отсроченных постнатальных патологий. ГГЦ считается фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний и ряда патологий центральной и периферической нервной системы: шизофрения, эпилепсия и мигрень. Нейротоксическое действие ГЦ обусловлено его способностью активировать глутаматные рецепторы, вызывать нейровоспаление, активацию глиальных клеток, апоптоз нейронов. Эти процессы лежат в основе нарушения формирования нейрональных сетей мозга, поскольку именно в пренатальный период происходит миграция и дифференцировка нейронов, созревание синапсов. Было высказано предположение о значительной роли дефицита H₂S в нейротоксичности, вызванной ГЦ. Известно, что в условиях хронической ГГЦ происходит снижение активности и экспрессии ферментов синтеза H₂S. Установлено, что на раннем этапе постнатального развития мозга происходит усиление экспрессии ферментов синтеза H₂S, предполагается его участие в росте и созревании нейрональных сетей мозга. В связи с этим целью работы является исследование развития флуоротил-индуцированной эпилептической активности в гиппокампе крыс *in vivo* с пренатальной гипергомоцистеинемией и получающих H₂S в пренатальный период.

В экспериментах использовали крысят в возрасте 2 недели после рождения. Для создания хронической модели пренатальной ГГЦ использовалась метиониновая нагрузка, а для исследования роли H₂S использовали протокол с введением донора H₂S самкам (ГГЦ+H₂S). Регистрацию электрической активности проводили с помощью многоканальных электродов в СА1 области гиппокампа (AP – 2,2 мм, ML – 2 мм). Анализировали амплитуду, частоту, длительность и спектральную мощность флуоратил-индуцированных эпилептических разрядов, частоту множественных потенциалов действия (МПД) до и после эпилепсии. Анализ базовой активности нейронов гиппокампа показал достоверное увеличение частоты МПД у крыс с пренатальной ГГЦ. В группе ГГЦ+H₂S не наблюдалось достоверных отличий в частоте МПД (n=6). Ингаляция флуоротилом (100 мкл, 2 мин) приводила к появлению высокоамплитудной эпилептиформной активности в гиппокампе животных. В группе ГГЦ эпилептиформная активность развивалась раньше, чем в контроле, а в группе ГГЦ+H₂S латентный период развития флуоратил-индуцированной эпилепсии был достоверно более длительным. Также наблюдалось усиление как амплитуды, так и мощности эпилептиформных разрядов в группе крыс с пренатальной ГГЦ, без изменения длительности. В группе ГГЦ+H₂S амплитуда и мощность эпилептиформной активности достоверно не отличалась от контрольных значений. После индукции эпилепсии частота МПД резко падала во всех группах животных и к 120 мин возвращалась к исходному уровню в группе ГГЦ+H₂S. В то же время в ГГЦ подобного восстановления не наблюдалось: частота МПД достигала 72% относительно значений до ингаляции хемоконвульсанта.

Таким образом, в условиях пренатальной ГГЦ наблюдается увеличение фоновой активности гиппокампа и усиление флуоратил-индуцированной эпилепсии. Можно предположить, что высокий уровень ГЦ в пренатальный период способствует развитию гипервозбудимости нейронов головного мозга крыс. Введение донора сероводорода облегчает токсические эффекты ГЦ на ЦНС, способствует снижению гипервозбудимости нейронов и вероятности риска развития эпилепсии.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ 20-15-00100.