

государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ярославская государственная медицинская академия»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Ярославское отделение Физиологического общества им. И.П. Павлова  
Ярославское отделение Всероссийского научного общества анатомов, гистологов и эмбриологов

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ НЕЙРОБИОЛОГИИ

*Материалы научной конференции  
с международным участием,  
посвященной 70-летию  
Ярославской государственной медицинской академии*



**31 октября – 1 ноября 2014 года  
Ярославль**

Печатается по решению редакционно-издательского совета государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**УДК 612.17**

**ББК 28.91**

Современные проблемы нейробиологии. Материалы научной конференции с международным участием, посвященной 70-летию Ярославской государственной медицинской академии. – Ярославль: ГБОУ ВПО ЯГМА Минздрава России, 2014. – 60 с.

**Редакционная коллегия:**

Маслюков П.М. – доктор медицинских наук, профессор

Филиппов И.В. – доктор биологических наук, доцент

Щербаков А.О. – кандидат медицинских наук, доцент

Пугачев К.С. – кандидат биологических наук

Кребс А.А. – ассистент (отв. редактор)

**© государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ярославская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2014 г.**

## ВВЕДЕНИЕ



В 2014 г. исполняется 70 лет Ярославской государственной медицинской академии (до 1994 г. - медицинский институт), которая была образована в соответствии с распоряжением Совета Народных Комиссаров СССР № 16725-р от 15 августа 1944 года.

Отмечая 70-летие академии, следует упомянуть, что это не только памятное событие, но и время подвести итоги той деятельности, которая свойственна академии и ее коллективу. Все эти годы в академии успешно проходит подготовка специалистов

медико-биологического профиля в соответствии с запросами системы здравоохранения. В связи с тем, что подготовка указанных специалистов в настоящее время становится все более сложной и комплексной, это требует углубленных знаний и представлений о деятельности организма. Все это невозможно без научно-исследовательской работы, которая осуществляется в стенах академии с момента ее формирования.

При этом значительное внимание уделяется изучению особенностей нервной системы, выделившееся в настоящее время в особый раздел науки - нейробиологию. Для многих ученых, преподавателей и студентов академии 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 академии 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 академии. Как результат всех этих процессов, 17.11.2009 г. в академии был создан научно-образовательный центр нейробиологических исследований.

В настоящее время тесные связи объединяют коллективы академии и ведущих образовательных и научно-исследовательских организаций Москвы, Санкт-Петербурга, Казани и других городов. Помимо этого традиционные партнерские связи между академией и другими ярославскими вузами.

Мы искренне надеемся, что как сама конференция, так и материалы данного сборника вызовут интерес со стороны представителей ученых, преподавателей и студентов и стимулируют углубление и дальнейшее развитие научного сотрудничества и прогресс в области современной нейробиологии.

Редколлегия

## СТРУКТУРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРВНОГО ВОЛОКНА

Абакшина М.Н., Филимонов В.И., Шилкин В.В.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

В современной литературе под термином спраутинг подразумевают отрастание новых ветвей от аксонов или дендритов с установлением новых связей, при повреждении нервной клетки или ее отростков. Фактически этот термин вытеснил хорошо известные по исследованиям отечественных ученых термины реактивное раздражение, коллатеральный рост, избыточный рост, разрастание терминалей, которые соответствуют нодальному спраутингу и терминальному спраутингу. Считается, что именно феномен разрастания лежит в основе посттравматической регенерации отростков нервных клеток. При этом упускается возможность роста нейрита травмированного отростка, конус роста которого внедряется в ранее существующие футляры леммоцитов – Бюнгнеровы ленты. Какова же роль различных видов разрастания нейрита в посттравматической регенерации нервного волокна? Для ответа на этот вопрос были проведены три серии опытов (всего 80 белых крыс): 1 - полное пересечение седалищного нерва, 2 – первичный непосредственный (эпи-периневральный) шов нерва, 3 – отсроченный шов нерва. Для контроля исследовали седалищный нерв 10 интактных животных. Результаты оценивали по данным электронной микроскопии и гистохимического изучения активности холинэстеразы в области нейромышечного синапса.

Установлено, что в проксимальном конце пересеченного нерва наряду с дегенерацией нервных волокон происходит интенсивное образование конусов роста из области узлов волокон, расположенных проксимальнее места пересечения нерва. В течение первого месяца после невротомии из конусов роста формируются нейролеммальные комплексы и микропучки, содержащие как безмиелиновые, так и миелиновые волокна. После первичного шва нерва коллатеральный спраутинг выражен слабо, аксональные конусы роста преобладают. Аналогичная картина обнаружена и после отсроченного шва, который накладывался после иссечения заросшего проксимального конца пересеченного нерва. Как видно, регенерация волокон в проксимальном конце пересеченного нерва зависят от одного фактора – восстановлена целостность нерва или нет. Об этом свидетельствуют: а) выраженный нодальный спраутинг в проксимальном конце пересеченного нерва, минимальный нодальный спраутинг после первичного и отсроченного шва; б) выраженный аксональный рост после первичного и отсроченного шва и его отсутствие в проксимальном конце пересеченного нерва.

В периферическом конце пересеченного нерва уже в первые сутки исчезают безмиелиновые волокна. Миелиновые волокна на протяжении длительного времени подвергаются деструкции, которая завершается формированием Бюнгнеровых лент. При этом, изменения в области ферментоактивной зоны НМС оцениваются как дистрофические и деструктивные, связанные с потерей контакта с терминалями аксона и атрофией мышечного волокна. После нейрорафии в периферическом конце сшитого нерва отмечается картина дегенерации нервных волокон и их восстановления путем прорастания аксональных и нодальных конусов роста конусов роста как в Бюнгнеровы ленты (отсроченный шов, первичный шов), так и в разрушающиеся миелиновые волокна (первичный шов). При этом, в первые же дни после восстановления целостности нерва, когда контакт с мышечным волокном исключен, начинается реконструкция предсуществующих и формирование новых ферментоактивных зон НМС. Последующие их изменения (увеличение площади, глобулизация) свидетельствуют о терминальном спраутинге, т.е. разрастании терминалей нервного волокна.

Восстановление структуры периферического конца сшитого нерва идет сложным путем формирования простых монофиламентных и полифиламентных волокон, нейролеммальных комплексов и пучков, строение которых зависит от полифункциональных леммоцитов Бюнгнеровых лент. Не исключается также возможность деления волокон.

## НОЦИЦЕПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА В ЛИМБИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Абрамова А.Ю., Перцов С.С.

ФГБУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Россия, Москва

Иммунная система принимает участие в регуляции болевых реакций при различных заболеваниях в остром периоде, а также играет важную роль в формировании хронических болевых синдромов. Остаются невыясненными вопросы генеза болей, самостоятельной причиной которых могут быть начальные изменения иммунных процессов с участием структур головного мозга. Перцепция и эмоциональная оценка боли тесно связаны с функциональной активностью лимбических структур головного мозга. Таким образом, изучение центральных иммунозависимых механизмов ноцицепции с участием указанных структур является актуальным направлением современных исследований.

Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах Вистар массой 250 – 300 г. При проведении экспериментов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными на заседании этической комиссии ГУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН (протокол №1 от 3.09.2005), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. В работе применяли пирогенал – липополисахарид (ЛПС) мембраны микробных клеток. В современных исследованиях ЛПС широко применяется для моделирования иммунных реакций у млекопитающих. Животные были разделены на 2 группы. Группа I – животные, получавшие микроинъекции ЛПС (0,05 мкг) в дорсальный гиппокамп (подгруппа I-1,  $n=12$ ) и задний отдел поясного пучка (подгруппа I-2,  $n=10$ ) и группа II - животные, получавшие микроинъекции физиологического раствора в дорсальный гиппокамп (подгруппа II-1,  $n=7$ ) и задний отдел поясного пучка (подгруппа II-2,  $n=11$ ). Перцептуальный компонент ноцицепции у крыс оценивали по латентному периоду реакции отведения хвоста (ЛП РОХ, сек) в ответ на светотермальное раздражение («tail-flick» метод). Эмоциональный компонент ноцицепции определяли по порогу вокализации крыс (ПВ, мА) в ответ на электрокожное раздражение хвоста. Показатели ноцицептивных реакций у крыс измеряли в исходном состоянии и на 7-е сутки после введения ЛПС или физиологического раствора.

Введение физиологического раствора в дорсальный гиппокамп и задний отдел поясного пучка крыс не приводило к статистически достоверным изменениям порогов ноцицепции по сравнению с исходными показателями. Изучение характера влияния ЛПС при микроинъекции в лимбические структуры головного мозга крыс на ноцицептивную чувствительность животных показало следующее. На 7-е сутки после введения ЛПС в дорсальный гиппокамп животных выявлено незначительное снижение ЛПРОХ по сравнению с исходными показателями. ПВ крыс в этих условиях возрастал в 1,57 раза ( $p<0,05$ ). Введение ЛПС в задний отдел поясного пучка мозга животных сопровождалось статистически недостоверным – по сравнению с исходными значениями – увеличением ЛПРОХ, но выраженным снижением ПВ (в 1,43 раза,  $p<0,05$ ).

Полученные нами результаты свидетельствуют об относительной стабильности перцептуального компонента ноцицепции у крыс при антигенном воздействии на лимбические структуры головного мозга. В указанных экспериментальных условиях введение ЛПС приводит к специфическим, зависящим от структуры головного мозга, изменениям эмоционального компонента ноцицепции: подавлению – при воздействии на дорсальный гиппокамп, но усилению – на задний отдел поясного пучка. Представленные данные иллюстрируют тесное функциональное взаимодействие иммунных и нервных процессов, лежащее в основе регуляции болевой чувствительности у млекопитающих.

## ПЕЙСМЕКЕРЫ ЖЕЛУДКА БЕЛОЙ КРЫСЫ.

Агаджанова Л.С., Румянцева Т.А.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Интерстициальные клетки Кахаля (ИКК) были выявлены в гастроинтестинальном тракте более 100 лет назад (Cajal SR., 1911), и несколько возможных функций были приписаны этим клеткам на основании их морфологии и тесных анатомических связей с гладкомышечными клетками и нейрочитами (Sanders KM., 1996). Было установлено, что ИКК имеют тирозинкиназные (Kit) рецепторы, мечение которых и позволило идентифицировать ИКК в ЖКТ различных видов, включая человека, морскую свинку, мышшь, крыс и птиц, используя световую микроскопию (Ward SM, Sanders KM, 2001).

Работа выполнена на 25 белых крысах-самцах линии Вистар массой 250 граммов. Иммуногистохимические исследования ИКК проводили с использованием маркера c-kit, моноклональные антитела CD117, фирма Santa Cruz sc-5535, c-Kit (H-300). Материалом исследования служили криостатные срезы (толщиной 40 мкм) различных отделов желудка (вентральной и дорсальной стенки пищевого отдела, кардиального отдела, тела желудка, пилорического отдела, малой кривизны, большой кривизны). Выбор участков определялся по анатомическому описанию желудка крысы (Ноздрачев А.Д., Поляков Е.Л., 2001). Относительную плотность сетей ИКК оценивали с помощью видеонализатора. Для обработки цифровых данных использовали программу MS Office Excel. Оценку значимости различий проводили по t-критерию Стьюдента.

Целью данного исследования являлось выявление различий в плотности распределения сетей ИКК между отделами желудка.

ИКК были выявлены во всех отделах желудка. Сеть ИКК локализуется на уровне мышечной оболочки в пределах циркулярного и продольного слоев и на границе подслизистой и циркулярного мышечного слоев желудка крысы. Учитывая, что роль водителей ритма приписывают именно сплетениям мышечного слоя желудка, оценка плотности ИКК проводилась именно в нем.

В пищевом отделе желудка относительная плотность позитивных сплетений колебалась от 16 до 42 ед., составляя в среднем  $23,0 \pm 1,07$  для вентральной стенки и  $25,7 \pm 1,52$  для дорсальной стенки ( $p < 0,05$ ). В кардиальном отделе относительная плотность сплетения ИКК клеток колебалась от 14 до 21, на вентральной и дорсальной стенках в среднем достигала  $18,5 \pm 0,93$  и  $18,5 \pm 0,99$ . В теле желудка на вентральной и дорсальной стенке плотность ИКК изменялась от 14 до 24, при этом средние значения достоверно не различались:  $22,0 \pm 1,45$ ,  $23,03 \pm 1,18$  и  $22,5 \pm 1,72$  ( $p > 0,05$ ). В пилорическом отделе плотность сплетений в разных полях зрения колебалась от 16 до 28, составляя в среднем  $25,8 \pm 1,26$  на вентральной и  $24,5 \pm 1,32$  на дорсальной стенках ( $p > 0,05$ ).

Наибольшая плотность распределения ИКК определяется в пилорическом отделе и в дорсальном отделе пищевого отдела, наименьшая - в кардиальном отделе. Дорсальная и вентральная стенки тела желудка имеют промежуточные показатели плотности позитивных клеток. Выявленные различия плотности сетей ИКК между отделами желудка достигают 43%.

Полученные данные выявляют наличие положительных корреляций между плотностью ИКК, толщиной мышечного слоя желудка и плотностью межмышечного нервного сплетения, что, с учетом существующих электрофизиологических данных, доказывает, что именно зона привратника является источником стартовых перистальтических волн желудочно-кишечного тракта у крыс. Вторая зона с высокой плотностью ИКК на задней стенке пищевого отдела желудка в доступной литературе не описана, но локализация вблизи сфинктера позволяет предположить её активное участие в организации моторики желудка.

## ВЛИЯНИЕ PPADS НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МИОКАРДА КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Аникина Т.А.<sup>1</sup>, Ситдииков Ф.Г.<sup>1</sup>, Анисимова И.Н.<sup>2</sup>, Зверев А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань

<sup>2</sup>МБОУ «Школа 174», Россия, Казань

Свое влияние АТФ и УТФ реализуют через ионотропные и метаботропные P2X и P2Y-рецепторы, разнообразие которых превышает все известные подтипы рецепторов для «классических» нейромедиаторов и гормонов. В сердце на кардиомиоцитах обнаружены метаботропные P2Y<sub>1,2,4,6,11,13</sub> рецепторы, агонистом которых является УТФ. Такое разнообразие пуринорецепторов предполагает, что одно и то же вещество может вызывать самые разные специфические сигналы в зависимости от того, с каким рецептором оно будет связываться.

Иммуногистохимический анализ показал наличие возрастных особенностей локализации P2Y - рецепторов в сердце крыс. Выраженность этих рецепторов у взрослых животных имеет следующий порядок: P2Y<sub>6</sub>>P2Y<sub>1</sub>>P2Y<sub>2</sub>=P2Y<sub>4</sub>. Также известно, что экспрессия P2Y - рецепторов в миокарде меняется в онтогенезе и усиливается для P2Y<sub>1,2,6</sub>- подтипа рецепторов. Однако нет данных, подтверждающих участие P2Y – рецепторов в регуляции сократительной активности миокарда крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза в условиях незрелости регуляторных влияний на сердце и разных этапов биологического созревания организма. Существуют противоречивые данные о селективности блокаторов P2Y-рецепторов. По мнению многих исследователей, блокаторы P2Y-рецепторов обладают видовой и тканевой специфичностью. В настоящее время установлено, что PPADS является антагонистом P2Y<sub>1</sub> и возможно, P2Y<sub>6</sub> подтипов рецепторов. В литературе имеются данные, где показано отсутствие влияния PPADS на P2Y<sub>4</sub> подтип рецепторов крыс. По данным других авторов PPADS умеренно блокирует P2Y<sub>2,6,11,13</sub> подтипы рецепторов.

Целью данного исследования явилось определение влияния PPADS на параметры сократимости миокарда предсердий и желудочков крыс 7-100-суточного возраста. Эксперименты проводили на белых лабораторных крысах 7-, 21-, и 100-дневного возраста в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Регистрацию действия препарата на амплитудно-временные характеристики сократимости миокарда изучали на установке “PowerLab” с программным обеспечением “Chart 5.0”. Достоверность различий рассчитывали по параметрическому парному и непарному t критерию Стьюдента, достоверными считались результаты при p<0,05.

Фармакологические исследования с использованием различных агонистов и антагонистов рецепторов позволят идентифицировать подтип P2Y - рецепторов. У новорожденных крысят добавление PPADS вызывает положительный инотропный эффект. У 21-суточных крыс в предсердиях исследуемый блокатор снижает амплитуду сокращения. После инкубации миокарда желудочков с PPADS наблюдается увеличение амплитуды сокращения. Из исследуемых временных параметров инотропии миокарда, в большей степени увеличиваются скорость сокращения и скорость расслабления миокарда. Такие показатели как длительность, время сокращения и расслабления изменяются не значительно. У взрослых крыс блокатор оказывает отрицательный инотропный эффект. Таким образом, PPADS оказывает разнонаправленное действие на параметры инотропии миокарда крыс разного возраста.

## **АКТИВАЦИЯ МИКРОГЛИИ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ЭПИЗОДА ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ КЛОНИКО-ТОНИЧЕСКИХ СУДОРОГ**

Аниол В.А., Иванова-Дятлова А.Ю., Тишкина А.О., Гуляева Н.В.  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Высшей  
Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Россия, Москва

Судорожная активность, в хроническом виде определяющая течение эпилепсии, в виде отдельных эпизодов может осложнять течение многих других неврологических и соматических заболеваний. По данным различных исследований, однократный приступ судорог хотя бы раз в жизни испытывали от 5 до 10% всего населения Земли. Несмотря на широкую встречаемость одиночных судорог, их долгосрочные эффекты остаются мало изученным феноменом. Ситуация серьезно осложняется объективными трудностями проведения клинических исследований такого рода, в частности, отсутствием возможности оценить функциональные показатели пациентов непосредственно до возникновения судороги. В этой ситуации моделирование на животных представляется адекватным подходом к решению данной задачи.

Целью нашей работы было изучение эффекта одиночного эпизода клонико-тонических судорог, вызванных пентилентетразолом (ПТЗ, 70 мг/кг), на показатели обучения и памяти у крыс. В течение нескольких месяцев после судорог у животных происходило медленное снижение показателей кратковременной памяти в тестах социального узнавания и распознавания нового предмета. Одновременно с развитием когнитивных нарушений в герминативной зоне гиппокампа наблюдалась элиминация избытка новых клеток, образовавшихся непосредственно после судорог. При этом сразу после судорог в зубчатой извилине гиппокампа происходила кратковременная активация микроглиальных клеток. Изменение микроокружения по нейровоспалительному типу может представлять собой возможный механизм нарушения нормального созревания и встраивания новых нейронов в гиппокампе после судорог и вызванного этими нарушениями когнитивного дефицита.

*Исследование было частично поддержано грантами РГНФ № 13-36-01277 и РФФИ № 12-04-00930.*

## **РЕЦЕПТОРЫ СЕРДЦА, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА ИНОТРОПНОЕ ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА НА МИОКАРД**

Билалова Г.А., Ситдиков Ф.Г., Казанчикова Л.М., Дикопольская Н.Б.  
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань

Особую роль в нейро-гуморальной регуляции функций организма и поддержании гомеостаза занимает симпато-адреналовая система, которая оказывает своё действие через катехоламины. Катехоламины способны быстро влиять на метаболические, иммунные процессы, работоспособность сердечной и скелетной мышцы.

Регуляторное влияние моноамина дофамина (ДА) на сократимость миокарда исследовано недостаточно, особенно в онтогенезе. Известно, что дофамин реализует свое влияние через разные подтипы дофаминовых рецепторов: D1-подобные рецепторы, включающие подтипы D1 и D5, и D2-подобные рецепторы, объединяющие D2-, D3- и D4-рецепторы. Дофамин является агонистом D2-рецепторов, в высоких дозах и D1-рецепторов, а также  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторов. Выраженность эффекта определяется дозой.

Вопрос представляет интерес и потому, что в онтогенезе болезни Паркинсона большое значение имеет нарушение нейромедиаторов холинергических и дофаминергических процессов в головном мозге. На досимптомной и ранней симптомной стадиях болезни Паркинсона в сердце обнаружены сдвиги в концентрации дофамина (Нигматуллина и др.,



2014). Возможно, изменения в сократимости миокарда при действии дофамина могут служить как потенциальные маркеры паркинсонизма.

Целью данного исследования явилось изучение влияния дофамина разных концентраций на сократимость миокарда неполовозрелых крыс при блокаде адренорецепторов и дофаминовых рецепторов. Эксперименты проводили на белых лабораторных крысах 21-суточного возраста на полосках миокарда предсердий и желудочков с соблюдением биоэтических норм. Изометрическое сокращение полосок миокарда предсердий и желудочков регистрировали на установке «Power Lab» (ADInstruments) с датчиком силы "MLT 050/D" ("ADInstruments"). Определяли реакцию силы сокращения миокарда предсердия и желудочка на возрастающие концентрации дофамина («Sigma») в диапазоне  $10^{-9}$ – $10^{-5}$ М. Для блокады  $\alpha$ -адренорецепторов использовался фентоламин в концентрации  $10^{-6}$ М,  $\beta$ -адренорецепторов - пропранолол в концентрации  $10^{-6}$ М и d-рецепторов - дроперидол («Sigma»). Реакцию силы сокращения в ответ на дофамин рассчитывали в процентах от исходной, которую принимали за 100%. Достоверность различий рассчитывали по t-критерию Стьюдента.

Установлено, что у 21-суточных крыс дофамин в концентрации  $10^{-9}$ М оказывает положительное инотропное действие на миокард желудочков и предсердий. Повышенные концентрации дофамина ( $10^{-7}$ М,  $10^{-6}$ М,  $10^{-5}$ М) приводят к отрицательному инотропному эффекту. После блокады  $\alpha$ -адренорецепторов дофамин в концентрации от  $10^{-9}$ М до  $10^{-6}$ М вызвал снижение силы сократимости миокарда желудочков и предсердий. Вероятно, положительный инотропный эффект вызывается активацией  $\alpha$ -адренорецепторов. На фоне блокады  $\beta$ -адренорецепторов дофамин при действии всех исследованных концентраций вызывал наиболее выраженные отрицательные инотропные эффекты. Следовательно, при высоких концентрациях дофамин вызывает положительную инотропную реакцию через активацию  $\beta$ -адренорецепторов. При высоких дозах дроперидола исчезают отрицательные инотропные эффекты дофамина. Следовательно, на данном этапе онтогенеза, при становлении симпатической регуляции деятельности сердца дозозависимый эффект дофамина реализуется через разные типы рецепторов.

## **ОПТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ ПО ВНУТРЕННЕМУ СИГНАЛУ: ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ПОДХОД К ИССЛЕДОВАНИЮ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

Бондарь И.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Россия, Москва

Современные методики картирования активности нейронов позволяют быстро и эффективно (и зачастую с минимальной степенью инвазивности!) оценивать функциональную специализацию как определенных областей мозга, так и отдельных компартментов нервных клеток. С помощью оптического картирования по внутреннему сигналу возможно изучение тонкой функциональной архитектуры первичной зрительной коры млекопитающих. Оценка модульной организации этой корковой области важна не только для понимания основополагающих принципов работы зрительного анализатора и создания его работающих моделей, но и для изучения особенностей созревания зрительной функции в процессе онтогенеза.

В основе метода оптического картирования по внутреннему сигналу лежит использование локальных метаболических изменений в кровотоке мозга. Связанное с активацией нейронов накопление дезоксигемоглобина приводит к изменению оптических свойств ограниченного объема мозговой ткани, что может быть зарегистрировано с помощью высокочувствительной камеры с ПЗС-матрицей. Специальные методы анализа оптического сигнала, регистрируемого с поверхности мозга, позволяют обнаруживать отдельные рабочие модули коры и составлять детальные функциональные карты.

Для проведения экспериментов по оптическому картированию мозга в лаборатории физиологии сенсорных систем ИВНД и НФ РАН используется уникальный аппаратно-программный комплекс, который, в отличие от классических, обеспечивает ускорение процесса получения функциональных карт. Непрерывное длительное оптическое картирование позволяет расширить набор зрительных стимулов и характеристик изображения (ориентации линий, направления движения стимула и его контраста) для получения наиболее полной картины функционирования первичной зрительной коры. Кроме того, ускорение процесса построения карт коры способствует использованию данной установки в сочетании с классическими нейрофизиологическими методами. Так, высококачественные функциональные карты могут служить для целенаправленного погружения микроэлектродов при исследовании активности отдельных нейронов-детекторов. Получение карт каждые 10-15 минут делает возможными протяженные во времени исследования как локального, так и глобального воздействия фармакологически активных веществ на функциональную организацию мозга. Все это обеспечивает высокую эффективность и экономичность исследований.

В докладе будут представлены результаты экспериментов по оптическому картированию первичной зрительной коры кошки, которые позволили: а) оценить степень представленности рабочих модулей, задействованных в анализе информации о базисных и наклонных ориентациях стимула; б) выяснить распределение по функциональным доменам отдельных типов нейронов-детекторов; в) оценить влияние ритмической световой стимуляции в раннем онтогенезе на формирование нормальной функциональной архитектуры; г) исследовать устойчивость функциональной организации коры к глобальному и локальному фармакологическому воздействию.

### **ОБЩИЕ ОКУЛОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ СТУДЕНТОВ-ОПЕРАТОРОВ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ СЛОЖНОГО СЕНСОМОТОРНОГО ТЕСТА, НА ПРИМЕРЕ ТЕСТА «СТРЕЛОК».**

Буркова Я.О., Масютина О.Н.

ФГБОУ ВПО «Воронежский Государственный Университет», Россия, Воронеж.

Целью настоящей работы являлось определение окулографических коррелятов поведения человека-оператора при выполнении компьютерного варианта сложного сенсомоторного теста «Стрелок». В исследовании принимали участие 19 студентов (10 юношей и 9 девушек) в возрасте 18-22 лет. Задача оператора заключалась в попадании в движущуюся по дуге мишень как можно ближе от места ее появления (левый угол поля «стрельбы») /Гуляева С.И., Муртазина Е.П., Журавлев Б.В., 2002/. Для этого необходимо было осуществить с помощью компьютерной «мышки» встречное перемещение луча, и в момент совмещения его с мишенью, нажать левую клавишу «мышки».

Вместе с сенсомоторными показателями (временными, пространственными и результативными параметрами двигательных реакций) регистрировали электроокулограмму (ЭОГ) и электромиограмму (ЭМГ) с помощью многофункционального компьютерного комплекса «Нейрон-спектр 4П» и программного обеспечения «Нейрон-спектр.NET» фирмы «Нейрософт» (частота опроса АЦП 500 Гц, с фильтрами частот 0.05 Гц и 200 Гц). С использованием двух web-камер и специально созданной программы осуществляли видеофиксацию с последующим визуальным анализом движений руки, головы и глаз обследуемых в процессе тестирования.

При анализе ЭОГ выделяли несколько типов окуломоторных реакций: микросаккады, макросаккады и прослеживающие движения. Начало саккад определяли по хорошо выраженным предсаккадным пикам (амплитуда 20-40 мкВ) /Е.А. Храмова, 2010/. Определяли латентный период, амплитуду и длительность окуломоторных реакций, сравнивали временные параметры саккад, ЭМГ потенциалов и данные протоколов программы об изменении координат луча.

Латентный период первых макросаккад, связанных с переводом взгляда на мишень, составил в среднем  $242 \pm 12$  мс, а амплитуда саккад составила  $11,9 \pm 0,98$  мкВ. Установлено, что длительность микросаккад (слежения за движущейся мишенью), в среднем составляло  $725 \pm 36$  мс. Выявлено, что амплитуда макросаккад уменьшается с каждой серией (в тесте 6 серий по 10 попыток в каждой). Так же выявлено, что макросаккады коррелировали с ЭМГ потенциалами начала движения «мышкой».

## **ЭКСПРЕССИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В LP ЯДРАХ ТАЛАМУСА МОЗГА 2-НЕДЕЛЬНЫХ КОТЯТ**

Вещицкий А.А., Михалкин А.А.

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук,  
Россия, Санкт-Петербург.

Формирование ЦНС млекопитающих активно продолжается в постнатальный период жизни. Одним из важнейших сценариев развития в этот период является формирование строгой таламокортикальной интеграции. Среди зрительных таламических ядер наиболее сильно связаны с корой два ядра: наружное коленчатое тело (НКТ) и ЛПл ядро ЛП-пульвинар комплекса. При этом ЛПл, в отличие от НКТ, модулирует ретинальные потоки информации (Sherman, Guillery, 2002). Так как известно, что ацетилхолиновая система принимает участие в структурных и функциональных перестройках корковых связей, можно предположить участие этой системы в таламокортикальной интеграции. Для локализации ацетилхолина используют гистохимический метод выявления фермента ацетилхолинэстеразы, катализирующего его гидролиз. Анализ данных, посвящённых ЛПл ядру, показал, что группы клеток, организующих восходящие связи к зрительной коре, сгруппированы в виде локальных скоплений, «патчей». Однако до сих пор не выявлено какой бы то ни было неоднородности в распределении в ЛПл клеточных маркёров. Ранее было показано, что у пренатальных животных ацетилхолин распределяется в передних холмах в виде цепочки патчей, исчезающих к моменту рождения (Illing, Graybiel, 1994). Исходя из этого мы сделали предположение о возможном патчевом распределении ацетилхолина в ядре ЛПл таламуса.

Исследование проводилось на 4 котят в возрасте 2 недель (момент полного открытия глаз) и 4 котят старшего возраста (4 месяца). Выявление ацетилхолинэстеразы на фронтальных срезах мозга проводили с помощью гистохимического метода (Schätz, Veh, 1987). У взрослых котят ЛПл ядро характеризуется низким уровнем активности ацетилхолина, что согласуется с литературными данными. Однако у 2-недельных котят экспрессия ацетилхолинэстеразы в ЛПл ядре таламуса распределена неравномерно: в нём визуализируются три локуса с намного более высоким, чем вокруг них, уровнем активности фермента (патчи). У всех 4-х котят таких локусов три, они располагаются цепочкой вдоль дорзо-вентральной оси мозга. Размерные характеристики патчей таковы: длина патчей составляет  $306 \pm 124$  мкм, ширина –  $230 \pm 112$  мкм. Расстояние между центрами патчей составляет 245-1006 мкм.

Таким образом, в ходе нашего исследования в ЛПл ядре таламуса мозга кошки были впервые обнаружены локусы с высоким уровнем активности ацетилхолина. Полагаем, что выявленная система ацетилхолиновых «патчей» принимает участие в начальных этапах таламокортикальной интеграции.

*Работа поддержана грантом ОФФМ «Интегративная физиология».*

## ХАРАКТЕРИСТИКА ГЛИО-НЕЙРОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ КРЫС ВИСТАР

Воронков Д.Н., Дикалова Ю.В.

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Россия, Москва

Повреждение и гибель нейронов черной субстанции характерны для болезни Паркинсона, ряда сходных нейродегенеративных патологий и интоксикаций различного характера. Предполагается, что повышенная уязвимость дофаминовых нейронов, связана, в том числе, с токсичностью продуктов обмена медиатора и генерацией активных форм кислорода. Несмотря на активное изучение молекулярных механизмов нейродегенерации, остается неясной избирательная чувствительность отдельных групп дофаминовых нейронов ЧС, наблюдающаяся как в клинике, так и в эксперименте. Мы предполагаем, что особенности глио-нейронального строения черной субстанции, могут служить одним из факторов, определяющих характер нейродегенеративного процесса в ЧС. В связи с этим, целью настоящего исследования было выявление особенностей морфологии и пространственной организации нейронов и астроцитов компактной и ретикулярной частей ЧС мозга крысы, как наиболее распространенного объекта для моделирования паркинсонизма.

В работе использовали мозг интактных крыс Вистар, самцов, 250-300 г. Серии фронтальных срезов (7 мкм), окрашивали иммуногистохимически, авидинпероксидазным методом. Маркером астроглии служил кислый глиофибрилярный белок (GFAP), а дофаминовых нейронов – тирозингидроксилаза (TH). Морфометрические исследования проводили используя микроскопы Leica DMLB и Nikon Eclipse NiU, при помощи программ анализа изображений Leica Qwin, ImageJ, NIS Elements. Оценивали количество TH<sup>+</sup> и TH<sup>-</sup> нейронов, размеры их профильного поля нейронов, их форму, а также определяли интенсивность окрашивания. Для оценки параметров астроцитов, помимо плотности их распределения, с помощью созданной нами процедуры определяли: число отростков, периметр и число ветвлений, площадь, занимаемую отростками, вытянутость дерева отростков. Кроме того, выполняли объемную реконструкцию черной субстанции по срезам и исследовали распределение клеточных элементов при помощи диаграмм Вороного.

Проведенная работа позволила выделить отличающиеся морфологическими характеристиками группы дофаминовых нейронов ЧС, отнесенные нами к вентральному, латеральному и дорсальному ее отделам, а так же выявить различия астроцитарных популяций ретикулярной и компактной частей ЧС. Были локализованы отдельные кластеры нейронов и астроцитов в компактной и ретикулярной частях черной субстанции, выявлена морфологическая гетерогенность астроглии и выделены три типа астроцитов, различающихся по характеру ветвления отростков. В целом, хотя плотность распределения нейронов в компактной части ЧС была наибольшей, астроциты в ней были распределены наименее плотно и характеризовались меньшей площадью распространения отростков. Незрелое дерево отростков астроцитов в компактной черной субстанции, по-видимому, может свидетельствовать о меньшем количестве контактов астроцитов с нейронами и синаптическими структурами, что может определять сниженные возможности участия астроглии в регуляции трофических процессов, синаптической передачи и нейропластичности. Таким образом, особенности астроцитарной организации компактной части черной субстанции, по-видимому, могут определять невысокую способность к компенсации патологических процессов, что в свою очередь может быть причиной дегенерации отдельных групп дофаминовых нейронов.

*Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-31922 мол\_a*

## **МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПИННОГО МОЗГА В РАННЕМ ПЛОДНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА**

Галиакбарова В. А.  
ОрГМА, Россия, Оренбург

В связи с высокой частотой пороков развития спинного мозга 0,05-0,25 случаев на 1000 новорожденных (Warder U. E., 2001) все большую актуальность приобретают вопросы диагностики пороков развития нервной системы на этапах пренатального онтогенеза. Выполнение соответствующих диагностических манипуляций требует детального топографо-анатомического обоснования.

Целью настоящего исследования стало получение новых данных по анатомии спинного мозга у плодов 16- 22 недель развития. Материалом исследования послужили торсы 10 плодов без пороков развития обоего пола 16- 22 недель гестации, полученные в результате прерывания беременности по социальным показаниям. В работе использованы методы макромикроскопического препарирования, морфометрии, фотографирования. Все полученные данные подвергали вариационно-статистической обработке.

Полученные результаты работы показали, что на данном этапе онтогенеза человека спинной мозг полностью сформирован и имеет свои особенности, отличающие его от спинного мозга взрослого человека. В рассматриваемом периоде онтогенеза у плодов отчетливо визуализируются как спинной мозг в целом, так и его составные части и элементы: утолщения, корешки, ганглии. Отчетливо определяются оболочки спинного мозга, конский хвост, мозговой конус.

Морфометрия, проведенная на препаратах спинного мозга, показала, что расстояние между спинномозговыми корешками зависит от уровня относительно позвоночника (в зависимости от сегмента спинного мозга) и в среднем слева составляет  $2,1 \pm 0,01$  мм (при диапазоне значений 1,44-2,69мм), справа  $2,16 \pm 0,02$  мм (размах показателей 1,46-2,83 мм). Длина дистанции от спинномозговых корешков до соответствующего ганглия слева колебалась в пределах от 0,83 мм до 2,02 мм при средней величине  $1,56 \pm 0,01$  мм. Справа эти показатели соответственно были равны 0,99 мм (минимальное), 1,65 мм (максимальное) и  $1,44 \pm 0,03$  мм (среднее). Расстояние между корешками, последовательно измеренное на уровне каждого сегмента спинного мозга, в среднем составляет  $4,42 \pm 0,03$  мм при минимальном значении 3,06 мм и максимальном 5,83мм. Значение дистанции между спинальными ганглиями колебалось в пределах от 3,85 мм до 6,82мм при среднем показателе  $6,13 \pm 0,06$  мм.

Таким образом, полученные первоначальные результаты работы расширяют представления морфологов о фетальной анатомии спинного мозга и могут быть использованы в практическом здравоохранении при оценке результатов ультразвукового исследования плода при подозрении на врожденные пороки позвоночника и спинного мозга, а также при выполнении лечебно-диагностических манипуляций на глубоко недоношенных новорожденных.

## **ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ДОСТИЖЕНИЯ ЦЕЛИ У ДЕТЕЙ 6-7 ЛЕТ С РАЗЛИЧНОЙ ВЫРАЖЕННОСТЬЮ РЕЧЕВЫХ ПРОБЛЕМ**

Горбачева М.В., Кузнецова Т.Г.

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Речь – одна из сложнейших высших психических функций, за которую ответственны центр Вернике, расположенный в слуховой коре височной доли (восприятие звуков), и центр Брока, обеспечивающий речедвигательную функцию (воспроизведение звуков, слов, фраз), расположенный в нижних отделах лобной доли, в непосредственной близости от проекции в коре мускулатуры, участвующей в речи, движениях руки и пальцев.

У детей с задержкой развития речи (ЗРР) и непрогрессирующей минимальной мозговой дисфункцией (ММД) различной этиологии страдают сложные интегративные когнитивные функции: речь, память, восприятие, гнозис, праксис, расстройства развития двигательных функций (диспраксия), расстройства формирования школьных навыков (дислексия, дисграфия, дискалькулия), выявляются синдром дефицита внимания с гиперактивностью, отклонения в эмоциональной и/или поведенческой сферах в целом (Бадалян, 2000; Баттерворт, Харрис, 2000).

И, если интеллектуальное развитие детей с этими нарушениями соответствует норме или умеренно снижено, трудности речевого общения нарушают адаптацию ребенка в детском коллективе. В то же время у 2% детей с серьезной задержкой развития речи по данным магнитно-резонансной томографии наблюдаются более высокие уровни мозговой активности правого полушария по сравнению со здоровыми детьми, у которых за слух отвечает левое полушарие.

В связи с этим **целью исследования** было сравнение организации процесса достижения объекта у детей с нормально развитой речью (НРР) и ЗРР при условии его движения с высокими скоростями (250 и 125 мм/с) отдельно и в их чередовании.

В **задачу** исследования входило проанализировать у детей такие показатели достижения цели, как длительность реакции сосредоточения на цели-объекте, способов его достижения и латентный период инструментальной реакции.

В результате проведенной работы было установлено, что способы достижения объектов у детей с ЗРР были более стереотипными в сравнении с детьми с НРР, а ЛП инструментальной реакции оказался продолжительнее ( $P < 0,05$ ). При коротком времени достижения цели (высокой скорости движения объекта) внимание страдает у них в меньшей степени по сравнению с двигательными реакциями, и, как следствие, дети с ЗРР труднее переключаются на новые задачи, хотя вполне успешно концентрируют внимание на “коротких дистанциях” т.е. при быстром достижении конечного результата. Именно поэтому детям с ЗРР, информацию, требующую участия моторной функции, необходимо подавать кратковременно, мелкими порциями, увеличивая время для реализации заданий в сравнении с детьми с НРР.

Таким образом, некоторое торможение моторных реакций в процессе обучения ребенка в дошкольном возрасте может служить психофизиологическим диагностическим признаком ранней задержки его речевого развития.

## **ИЗМЕНЕНИЕ СИМПАТИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ СЕРДЦА И ХВОСТОВОЙ АРТЕРИИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА. ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА СЕМАКС**

Горбачева А.М., Губайдуллина Г. Ф., Стулова А.Н., Никогосова А.Д., Лин М. Д.,

Бердалин А. Б., Гаврилова С.А., Кошелев В.Б.

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова,

Факультет Фундаментальной медицины, Россия, Москва,

**Введение.** Активация симпатической нервной системы отягчает течение инфаркта миокарда и влияет на ремоделирование сердца и сосудов. Было показано, что Семакс (фрагмент АКТГ-4-7 + Pro-Gly-Pro) снижает выраженность этой активации. В фокусе внимания этой работы ремоделирование сосудистого русла и миокарда крысы, а именно, изменение плотности симпатических нервов и плотности адренорецепторов ( $\alpha_1$ ,  $\beta_1$  и  $\beta_2$ ) в сердце и в хвостовой артерии в отставленный постинфарктный период, а также влияния Семакса на эти параметры. Дополнительно исследовали реактивность хвостовой артерии к норадреналину и ее ответ на электростимуляцию нервных окончаний.

**Материалы и методы.** Необратимую ишемию или ишемию-реперфузию через 2 ч 30 мин ишемии моделировали на самцах крыс по методу Селье. Семакс вводили в/бр. в дозе 150 мкг/кг через 15 минут и 2 часа 15 минут от начала коронароокклюзии в первый день и

однократно на 2-7 сутки. Через 28 суток после операции симпатические окончания окрашивали методом конденсации катехоламинов с глиоксиловой кислотой, оценивали плотность иннервации. Плотность адренорецепторов,  $\alpha_1$ ,  $\beta_1$  и  $\beta_2$ , оценивали иммуногистохимически по интенсивности окрашивания в программе Image-Pro Plus с последующим подсчетом относительной площади окрашенных участков. Эксперименты на изолированной хвостовой артерии проводили в режиме с постоянным расходом, ( $T=37^\circ\text{C}$ ,  $pH=7,4$ , аэрация 95%-кислород, 5% углекислый газ). Стимуляцию периартериальных нервных окончаний проводили прямоугольными импульсами тока постоянной амплитуды с чередующейся сменой полярности и изменяющимися частотой и длительностью. Для определения состояния адренергических рецепторов и их способности к ответу на стимуляцию сосуд перфузировали возрастающими концентрациями норадреналина ( $10^{-8}$  -  $10^{-6}$  М) в накопительном режиме. Оценивали изменение перфузионного давления.

Результаты. У интактных крыс относительная плотность симпатических нервов в хвостовой артерии составляет  $22\pm 6$ . На 28 сутки инфаркта иннервация хвостовой артерии в группе необратимой ишемии и ишемии-реперфузии значительно увеличивалась до  $29\pm 9$  и  $33\pm 9,5$  соответственно. В сердце значимое увеличение количества симпатических нервов наблюдали только в группе ишемии-реперфузии по сравнению с контрольной ( $3,34\pm 0,50$  и  $1,94\pm 0,43$  соответственно), а Семакс значительно снижал ее (до  $2,02\pm 0,64$ ). Увеличение плотности адренорецепторов в хвостовой артерии при развитии инфаркта наблюдалось только в случае  $\beta_1$  рецепторов в группе ишемии-реперфузии. Введение Семакса в группе необратимой ишемии привело к изменению плотности  $\alpha_1$ -адренорецепторов в хвостовой артерии с  $0,42\pm 0,09$  до  $0,56\pm 0,08$ ; плотность  $\beta_1$  и  $\beta_2$  рецепторов не изменилась по сравнению с группой без препарата. В группе ишемии-реперфузии введение препарата привело к изменениям плотности  $\alpha_1$  рецепторов с  $0,27\pm 0,05$  до  $0,41\pm 0,05$ ; плотность  $\beta_1$  и  $\beta_2$  рецепторов также не изменилась по сравнению с группой без препарата. Схожие результаты были получены и для адренорецепторов в межжелудочковой перегородке. Введение Семакса не приводило к изменению реактивности хвостовой артерии на введение норадреналина в обеих моделях. Семакс привел к уменьшению реактивности сосуда на электростимуляцию в группе ишемии-реперфузии, в группе необратимой ишемии изменений не было. Можно заключить, что увеличение активности симпатической нервной системы в постинфарктном периоде отражалось и на уровне нервов и рецепторов, при этом пептид, ограничивавший эту активацию, оказывал разнородное влияние в сердце и хвостовой артерии.

## **СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ ОБРАБОТКИ ФУНКЦИОНАЛЬНО РАЗЛИЧНОЙ ИНФОРМАЦИИ В СИСТЕМЕ БАЗАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ОРГАНИЗАЦИИ СТРИОПАЛЛИДАРНЫХ ПРОЕКЦИЙ РОСТРОМЕДИАЛЬНОГО ТЕГМЕНТАЛЬНОГО ЯДРА МОЗГА СОБАКИ.**

Горбачевская А.И.

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

Ростромедиальное тегментальное ядро (РМТЯ), выделенное из каудальной области вентрального тегментального поля, имеет связи со многими структурами, входящими в морфофункциональную систему базальных ганглиев, и, как и они, вовлечено в регуляцию двигательных и мотивационных аспектов поведения и патогенез ряда неврологических и психиатрических заболеваний. Однако в существующих моделях функционирования базальных ганглиев в норме или при патологии, проекции их с РМТЯ не рассматривались. Структурная, нейрохимическая и функциональная гетерогенность была выявлена не только в сегментах стриопаллидума, но и в разных частях и отделах РМТЯ. Несмотря на то, что в последнее время предлагается уделять большее внимание пространственной организации проекций, в малочисленных исследованиях, посвященных изучению связей между рассматриваемыми в настоящей работе структурами, наиболее часто обращали внимание только на наличие или отсутствие связей, не детализируя как проекции пространственно

организованы. В связи с этим не вызывает сомнения актуальность изучения организации проекций между отдельными сегментами РМТЯ и функционально различными сегментами основных ядер базальных ганглиев - стриатума - главной их входной структурой и паллидума, играющим критическую роль в модуляции их выходной активности

На основе анализа исследованных методом ретроградного аксонного транспорта проекций между отдельными частями рострального и каудального отделов РМТЯ и функционально различными сегментами структур стриатума и паллидума была исследована структурная основа проведения специфической моторной и лимбической информации и её интеграции в структурах исследуемой системы мозга 29 собак. В организации рассматриваемых проекций у собаки были выявлены элементы топика, указывающие на возможность сегрегированного проведения информации между лимбическим сегментом РМТЯ и лимбическими областями стриопаллидума (вентральные сегменты хвостатого ядра и скорлупы, медиальный сегмент прилежащего ядра, вентральный сегмент бледного шара, вентральный паллидум), а также между моторными сегментами РМТЯ и хвостатого ядра (дорсо-латеральный сегмент хвостатого ядра), на основании которых возможно уточнить функциональную специфичность отдельных сегментов рассматриваемых ядер. Но в большинстве структур стриопаллидума наблюдали конвергенцию проекционных волокон, исходящих от нейронов функционально различных частей РМТЯ, что может свидетельствовать о возможности интеграции в них функционально различной информации. Выявленные маркированные редковетвистые длинноаксонные «ретикулярные» нейроны РМТЯ, проецирующиеся на структуры стриопаллидума, также свидетельствуют об интегративной функции исследуемого ядра. Полученные данные о возможных путях проведения специфической моторной и лимбической информации и её интеграции в структурах исследуемой системы могут быть полезны для создания новых моделей, помогающих понять функционирование базальных ганглиев в норме и при их патологии. Уточнение функциональной специфичности отдельных сегментов ядер рассматриваемой системы позволит осуществлять более точные вмешательства (электростимуляция, хирургическое удаление) с целью получения лучших эффектов в двигательных, когнитивных, эмоциональных, вегетативных или иных расстройствах, возникающих в неврологических заболеваниях при дисфункции рассматриваемых ядер.

## **ВЛИЯНИЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ВЫГОРАНИЯ НА СИМПАТИЧЕСКИЙ ОТДЕЛ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У ШКОЛЬНЫХ УЧИТЕЛЕЙ**

Добротворская С.Г.

КНИТУ-КАИ им. А.Н. Туполева, Россия, Казань

Симпатический отдел вегетативной нервной системы выполняет задачу активизации деятельности органов тела и стимулирования различных реакций организма человека в чрезвычайных ситуациях или в случаях больших затрат энергии. Однако с возрастом у многих людей влияние на организм симпатического отдела начинает ослабевать. Особенно выражены данные изменения у людей, чья профессия сопровождается профессиональным выгоранием.

При этом *профессиональное (эмоциональное) выгорание* психологи определяют как синдром, который развивается на фоне хронического стресса, он ведет к истощению эмоционально-энергетических и личностных ресурсов специалиста. Профессиональное выгорание - одна из самых опасных профессиональных «деформаций» тех, кто работает с другими людьми. Это педагоги, психологи, менеджеры, врачи, бизнесмены, журналисты и политики, - все те, чья деятельность невозможна без общения. Профессиональному выгоранию чаще подвержены люди старше 35–40 лет.

Так, в нашем исследовании принимали участие 3 группы школьных учителей разных возрастов:

- 1) возраст 25-35 лет;



- 2) возраст 36-50 лет;
- 3) возраст 51-60 лет.

Определялся индекс Кердо [1]. Было выявлено, что у молодых учителей наблюдается преобладание симпатических влияний со стороны вегетативной нервной системы. Более чем у половины учителей среднего возраста начинают преобладать парасимпатические влияния. У преподавателей же старшей возрастной группы было выявлено явное преобладание парасимпатического отдела вегетативной нервной системы.

Столь выраженной динамики в сторону преобладания парасимпатических влияний вегетативной нервной системы с возрастом не было обнаружено у людей, работающих в средней школе, но не принимающих непосредственного участия в учебном процессе.

Считается, что содействуют возникновению выгорания непосредственный глубокий контакт с учениками и острота их проблем [2]. Для таких людей характерна потеря интереса к работе и к жизни в целом. Это представители, так называемых социномических профессий. Эта категория людей предьявляет также со временем больше жалоб на свое здоровье. По причине профессионального выгорания талантливые педагоги могут стать проф. непригодными.

При этом такие люди редко могут справиться с проблемой профессионального выгорания, так как изменения происходят в нервной системе на клеточном уровне. Им необходима долговременная помощь врачей и психологов.

Психолог может помочь в снятии стрессовых состояний, возникающих у учителей в связи с напряженной деятельностью, формировании навыков саморегуляции, обучить техникам расслабления и контроля собственного физического и психического состояния, повышению стрессоустойчивости [3]. Но иногда последнее средство – смена работы.

#### *Литература:*

1. Kerdo I. Ein aus Daten der Blutzirkulation kalkulierter Index zur Beurteilung der vegetativen Tonuslage // Acta neurovegetativa.- 1966. - Bd. 29. - № 2. - S. 250-268.
2. Формалюк Т.В. Синдром «эмоционального сгорания» как показатель профессиональной дезадаптации учителя // Вопросы психологии, 1994, № 6, С.57-64.
3. Зборовская И.В. Саморегуляция психической устойчивости учителя // Прикладная психология. 2001, № 6, С.55-65.

## **ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ СИМПАТИЧЕСКИХ И ИНТРАМУРАЛЬНЫХ УЗЛОВ КРЫСЫ, СОДЕРЖАЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ КАЛЬЦИЙ-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКИ**

Емануйлов А.И., Маслюков П.М.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Ca<sup>2+</sup> является одним из универсальных регуляторов многочисленных процессов, происходящих в клетке. Внутри- и внеклеточные сигналы могут приводить к кратковременному увеличению внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> в клетке. Связывание кальция сопровождается изменением пространственной ориентации определенных групп белка и приводит к изменению его свойств.

В настоящее время описаны Ca-связывающие белки, содержащие в своей структуре от двух до шести Ca-связывающих центров. К наиболее распространенным в нервной системе относятся кальбиндин массой 28 кДа (КБ), кальретинин (КР) и парвальбумин, относящиеся к EF-семейству Ca-связывающих белков. Целью настоящего исследования явилось выявление локализации, процентного содержания и морфометрических характеристик КБ и КР-иммунопозитивных нейронов в симпатических узлах и интрамуральных узлах межмышечного сплетения двенадцатиперстной кишки у крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-суточные, двух-, шестимесячные, одно-, двух-, трехлетние). Результаты показали, что определенная часть симпатических и метасимпатических нейронов уже с момента рождения содержит КБ. КР выявлялся только в нейронах интрамуральных

узлов. Процент КБ-иммунореактивных нейронов в симпатических узлах увеличивается с момента рождения до первых 10 суток жизни, затем уменьшается к концу первого месяца и впоследствии не меняется. Доля КР-иммунореактивных нейронов заметно увеличивалась в первые 10 суток жизни, и далее достоверно не изменялась, в том числе и у старых животных. Процент КБ-содержащих нейронов возрастал в первые 20 суток жизни, незначительно снижался к концу первого месяца и далее достоверно не менялся. Средний размер КБ- и КР-иммунореактивных клеток являлся достоверно больше средней площади сечения иммунонегативных нейронов во всех возрастных группах.

Таким образом, в раннем постнатальном онтогенезе происходит увеличение доли КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов в интрамуральных узлах кишки, что противоположно возрастным изменениям содержания кальций-связывающих белков в чувствительных спинномозговых и симпатических узлах. Окончательное созревание нейронов интрамуральных узлов, содержащих различные типы кальций-связывающих белков, завершается к концу первого месяца жизни. Возрастной инволюции КБ- и КР-иммунопозитивных нейронов межмышечного сплетения двенадцатиперстной кишки у старых крыс не отмечается.

## **ВОЗМОЖНОСТЬ МНОГОКРАТНОГО ИЗМЕРЕНИЯ ТРЕВОГИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Жуков Д.А., Виноградова Е.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, наб. Макарова, д.6, Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет, Россия, Санкт-Петербург

Уровень тревоги – одна из характеристик поведения грызунов, которая широко используется в ходе самых разных исследований. Основным устройством для измерения тревоги является приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ). Два дорожки этого лабиринта представляют собой открытые поверхности, две другие – закрытые стенками коридоры. Соотношение времени, которое проводит животное на закрытых и открытых дорожках, служит мерой тревоги, т.к. оно дозо-зависимым образом уменьшается при введении анксиолитиков. Главный недостаток метода – невозможность повторного тестирования животных, вследствие исчезновения новизны экспериментальной ситуации. Для повторного измерения уровня тревоги мы предлагаем дополнить тест ПКЛ двумя лабиринтами, каждый из которых представляет собой в плане квадрат. Общая длина дорожек и соотношение длин закрытых и открытых пространств те же, что и у ПКЛ. У одного лабиринта закрытые коридоры расположены на противоположных сторонах квадрата (К1), а у другого – около противоположных углов (К2).

Приводятся данные по тестированию мышей в трёх разных устройствах – ПКЛ, К1 и К2 – на протяжении трёх последовательных дней. Характеристики поведения (двигательная активность, время неподвижности, предпочтение открытых пространств) указывают на отсутствие привыкания к аппаратам.

Таким образом, предложенный метод позволяет измерять уровень тревоги у одних и тех же животных трижды, что открывает новые методические возможности.

# ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ РАЗЛИЧНЫХ ДИАПАЗОНОВ ШИРОКОПОЛОСНОЙ ЭЭГ НАД ОБЛАСТЯМИ СЕНСОРНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВ НЕОКОРТЕКСА У ИСПЫТУЕМЫХ РАЗЛИЧНОГО ПОЛА И ВОЗРАСТА

Зюзин Е.В., Филиппов И.В., Кребс А.А., Пугачев К.С.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Ранее, нашим коллективом были выявлены и изучены различные виды сверхмедленной биоэлектрической активности (СМБА) над областями зрительной, слуховой и вкусовой коры при предъявлении испытуемым различных типов сенсорных стимулов. Однако вплоть до настоящего времени неизвестными остаются возрастные и половые аспекты динамики СМБА над указанными корковыми представительствами сенсорных систем, представляющие интерес для создания нормативной базы возрастных и половых особенностей СМБА, что необходимо для дальнейшей клинической апробации указанной методики. Дополнительную актуальность приобретает сопоставление перестроек динамики СМБА (с частотами менее 0,5 Гц) с амплитудно-частотными перестройками ЭЭГ (0,5-70 Гц). Все это и послужило объективными предпосылками для проведения настоящего исследования.

Цель работы – зарегистрировать и проанализировать у добровольцев мужского и женского пола различных возрастных групп перестройки динамики сверхмедленной биоэлектрической активности над областями зрительной (ЗК), слуховой (СК) и вкусовой (ВК) коры при действии зрительных, слуховых и вкусовых стимулов, сопоставив перестройки СМБА и ЭЭГ.

В исследование были включены 30 испытуемых – добровольцев в возрасте от 20 до 74 лет (15 мужчин и 15 женщин). Испытуемые были разделены на несколько групп в соответствии с существующей физиологической классификацией возрастных периодов по Гундобину: зрелый возраст (первый период, второй период) и пожилой возраст. Для регистрации широкополосного сигнала (СМБА и ЭЭГ) с частотами 0,001-70 Гц были использованы универсальные усилители и аналого-цифровой преобразователь. Осуществлена монополярная регистрация СМБА и ЭЭГ с применением хлор-серебряных электродов, расположенными в точках Fp1, T3, O1. В качестве сенсорных стимулов были использованы стандартные воздействия, применяемые в электроэнцефалографии: тишина - ритмическая фоностимуляция, темнота - ритмическая фотостимуляция, а также различные вкусовые раздражители (растворы). Анализ и обработка данных включали цифровую фильтрацию, спектральный анализ и статистическую оценку полученных данных с использованием однофакторного дисперсионного анализа.

Установлено явление сверхмедленной спонтанной ритмической активности в виде постоянного присутствия над областями ЗК, СК и ВК секундных (период 4-10 секунд, амплитуда до 200 мкВ), многосекундных (период 28-60 секунд, амплитуда до 400 мкВ), минутных волн (период 4 минуты и более, амплитуда до 1 мВ), а также потенциала милливольтового диапазона (+/- 25 мВ). Обнаружены физиологические эквиваленты процессов анализа/переработки сенсорной информации в диапазоне секундных и многосекундных волн СМБА, при отсутствии статистически значимых изменений динамики минутных волн и потенциала милливольтового диапазона. Выявлены возрастные и половые отличия организации динамики СМБА и ЭЭГ над областями ЗК, СК и ВК.

Таким образом, обнаружено, что в корковых представительствах зрительной, слуховой и вкусовой сенсорных систем человека присутствует СМБА различных диапазонов, выявлены статистически значимые стимул-зависимые динамические изменения спектральных свойств волн СМБА при действии различных сенсорных стимулов, особенности которых отличаются в зависимости от пола и возраста испытуемых.

*Данная поисковая научно-исследовательская работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы,*

*при поддержке гранта РФФИ (проект 14-04-00028) и стипендии Президента РФ (СП-5052.2013.4).*

## **ВЛИЯНИЕ КЛАССИЧЕСКОЙ МУЗЫКИ НА ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА**

Калашник Г.А., Семилетова В.А.

Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко, Россия,  
Воронеж

В современном мире музыка окружает нас везде: дома, на работе, в учебных заведениях и общественных местах. Подвергаясь ее постоянному воздействию, следует знать, на какие процессы, происходящие в нашем организме, она влияет. В связи с вышеизложенным, цель нашей работы – изучение влияния музыки Моцарта на электроэнцефалографические показатели здорового человека. В эксперименте приняли участие девушки в возрасте 18-19 лет. Регистрация ЭЭГ проведена в 16 отведениях на электроэнцефалографе «Нейрософт», располагая электроды согласно международной системе «10-20». Последующий анализ ЭЭГ проведен с помощью программы «Нейрон-спектр». Оценке подвергались амплитудные и мощностные характеристики  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\theta$ - и  $\delta$ -ритмов человека и их изменения после 10-минутного прослушивания музыки Моцарта.

Анализ полученных данных показал генерализованное повышение амплитудных и мощностных показателей альфа-ритма во всех отведениях при закрытых глазах после прослушивания музыкального фрагмента. Мы предполагаем, что данное явление связано с успокаивающим и релаксирующим действием музыки на испытуемых. Интересны изменения альфа-активности в височных областях, так как генерация альфа-ритма здесь связывается с восприятием именно слуховых воздействий. Отмечено общее увеличение амплитуды и мощности высокочастотного бета-ритма во всех отведениях.

Повышение амплитуды и мощности тета-ритма выявлено в центральной и височной областях при открытых глазах, что, на наш взгляд, может свидетельствовать как о значительном расслаблении, так и о повышении восприимчивости структур головного мозга, что подтверждает наши данные, полученные для альфа-ритма. Кроме того, при закрытых глазах основные показатели тета-ритма во фронтальной и центральной областях повышались в левом полушарии и снижались в правом, что, возможно, связано с межполушарной асимметрией испытуемых (их выраженной левополушарностью).

Амплитуда и мощность дельта-ритма после музыкального воздействия значительно увеличивались в теменной области, как при открытых, так и при закрытых глазах. Кроме того, наблюдалось падение основных показателей дельта-ритма в височной области при закрытых глазах. Как мы полагаем, полученные данные согласуются с таковыми для альфа- и тета-ритмов и отражают факт релаксирующего действия музыки на испытуемых.

Проанализировав полученные данные, мы пришли к выводу, что влияние музыки Моцарта на электроэнцефалограмму человека проявляется в изменении амплитудных и мощностных показателей ритмов, особенно в височных областях. Данные изменения активности ЭЭГ могут свидетельствовать о значительном расслаблении студентов при прослушивании музыки, о повышении восприимчивости структур головного мозга, в том числе и к усвоению новой информации.

## **ФОРМИРОВАНИЕ СВЯЗЕЙ ВЕНТРАЛЬНОГО ОТДЕЛА ПЕРЕГОРОДКИ С УЗДЕЧКОЙ У КРЫС**

А.А. Клепуков, Макаренко И. Г.

Институт Биологии Развития РАН, Россия, Москва

Nabenula (узdechka) - это парная филогенетически древняя структура промежуточного мозга, встречающаяся у всех позвоночных. Вместе с Эпифизом Nabenula образует

Эпиталамус. В составе Habenula выделяют два ядра - Medial и Lateral nucleus. Через Habenula некоторые ядра переднего и промежуточного мозга (Septum, Lateral Preoptic Area, Lateral Hypothalamus, Entopeduncular nucleus) связаны с ядрами среднего мозга (Ventral Tegmental Area, Raphe nuclei). Нарушение работы этого пути может являться одной из причин депрессии и шизофрении.

Bed nucleus of Stria Terminalis является единственным ядром вентрального отдела Septum. Детали иннервации и топографии распределения окончаний нейронов Bed nucleus of Stria Terminalis в Habenula описаны у взрослых крыс, а данные о развитии этих связей отсутствуют. Цель данной работы – проследить развитие проекции Bed nucleus of Stria Terminalis на Habenula на разных стадиях перинатального развития.

Работа проводилась на крысах Вистар с датированной беременностью, материалом служил фиксированный в 4% параформальдегиде (PAF) мозг плодов на E17, E18, E19, E20, E21, и постнатальных животных на P0, P2, P4, P6. Процесс формирования связей определялся методом диффузии по мембранам липофильного карбоцианинового красителя DiI (1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate; Molecular Probes). Кристаллы DiI наносили микроиглой в проколы в Habenula на мозге, разрезанном сагиттально. Были использованы случаи, в которых область нанесения маркера охватывала либо одно, либо оба ядра уздечки. Мозг с маркером хранили в PAF в темноте в течение 3-12 месяцев при комнатной температуре. Анализ распределения меченых структур проводили на серийных вибраторных срезах толщиной 100 мкм, заключенных в мовиол. Препараты просматривали на флуоресцентном микроскопе (Leica DM RXA2). Для идентификации отделов и ядер мозга использовались атласы развивающегося мозга (Ashwell and Paxinos, 2008) и мозга взрослой крысы (Paxinos and Watson, 1997).

Нами была выявлено изменение профиля распределения нейронов и волокон в Bed nucleus of Stria Terminalis, иннервирующих Habenula, начиная с E17. В Habenula изменения распределения меченых волокон были выявлены с E18. К 6му дню постнатального развития общая структура связей между Bed nucleus of Stria Terminalis и Habenula стабилизировалась.

## **РЕАКЦИЯ СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ЗДОРОВЫХ БЕЛЫХ КРЫС И КРЫС С УДАЛЕННОЙ ПОЧКОЙ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНО БОЛЕВОГО СТРЕССА**

Косенко М.В., Петровских А.Ю., Петровских А.К., Смирнов Н.А., Щербаков А.О.  
Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Стрессорные поражения внутренних органов лежат в основе патогенеза многих заболеваний сердечно-сосудистой системы. Продолжительное нарушение активности симпатoadренальной системы и соотношения активности вазоспастических и вазодилатирующих катехоламинов играет в этом случае важную роль.

Моделирование стрессовых ситуаций производится, как правило, на здоровых животных. В человеческой популяции разрушающему воздействию дисстресса более всего подвержены люди с хроническими заболеваниями. Создать стойкое патологическое состояние у животного, как модель для исследования стресса, можно, удалив один из парных органов, например почку.

**Целью** данной работы было исследование различий в реакции симпатoadренальной системы здоровых белых крыс и животных с удаленной почкой на фоне воздействия эмоционально болевого стресса.

**Методическая часть.** Всего в эксперименте было использовано 40 крыс-самцов массой 170-180 г. Животные были подразделены на 3 группы по 10 особей в каждой: 1) интактные, 2) контрольные, 3) крысы после нефрэктомии без стресса, 4) крысы после нефрэктомии + стресс. Стресс-синдром моделировали иммобилизацией крыс на спине в течение 24 часов. Изучали следующие показатели: морфологические (весовые

коэффициенты надпочечников и тимуса и изъязвление слизистой оболочки желудка); биохимические (концентрацию в крови адреналина (АД), норадреналина (НА) и дофамина (ДА)).

**Полученные данные.** У контрольных крыс по отношению к интактным имела место гипотрофия тимуса (весовой коэффициент органа достоверно снижался на 41%), гипертрофия надпочечников (их весовой коэффициент возрастал в 1,5 раза,  $p < 0,05$ ) и 100% поражение слизистой желудка (среднее количество язв у одной крысы составляло  $6,2 \pm 1,1$ ). Нефрэктомия сама по себе является мощным стрессорным фактором. К 30 дню после нефрэктомии у крыс имела место тенденция к гипотрофии тимуса, достоверно на 30% повышался весовой коэффициент надпочечников и в 20% случаев регистрировались язвы желудка. Гипотрофия тимуса у крыс с одной почкой не отличалась от группы контроля, гипертрофия надпочечников была значительно выше (+82%), а язвы желудка, которые регистрировались в 100% случаев, были более обширными и глубокими.

Иммобилизационный стресс вызывал у животных выраженное нарушение обмена катехоламинов в крови: имело место достоверное повышение концентрации НА на 68% при снижении уровня АД и ДА на 35% и 42%, что лежит в основе падения внутриорганного кровотока, нарушения микроциркуляции и метаболической дисфункции. После нефрэктомии уровень НА повышался еще в большей степени (до +88%), на фоне еще большего снижения концентрации АД (на -49%). Содержание ДА существенно не изменялось.

Таким образом, нефрэктомия ухудшает переносимость животными эмоционально-болевого стресса, является адекватной моделью для исследования стрессовых реакций.

## **ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ НА ПРИМЕРЕ ПЕРЕСТРОЕК ДИНАМИКИ БИОПОТЕНЦИАЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ОТВЕТ НА ИНТРАТЕКАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА**

Кребс А.А., Филиппов И.В., Пугачев К.С., Зюзин Е.В.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Вплоть до настоящего времени остается практически неизученным вопрос о возможном влиянии и характере воздействия наночастиц металлов на биоэлектрическую активность головного мозга человека. Наличие лишь единичных статей, в которых описаны нейромедиаторные и поведенческие нарушения, возникавшие после введения наночастиц металлов, предопределяет интерес и актуальность проведения дальнейших исследований в данном направлении, что и послужило стимулом для выполнения настоящей работы.

Цель работы – выявить и проанализировать перестройки сверхмедленных колебаний потенциалов (СМКП) в диапазоне частот 0,001-0,5 Гц и ритмов электросубкортикограммы (ЭсКоГ) с частотами от 0,5 Гц до 100 Гц в нейромодуляторных системах головного мозга – голубом пятне (ГП), вентральной тегментальной области (ВТО), дорсальном ядре шва (ДЯШ) и базальном крупноклеточном ядре (БКЯ) – у крыс до и после интратекального введения наночастиц серебра.

Работа с соблюдением биоэтических правил проведена на 10 самцах взрослых крыс-альбиносов ( $n=100$  повторных наблюдений) с хроническими, долгосрочными интрацеребральными электродами, имплантированными в ГП, БКЯ, ДЯШ, ВТО. Многоканальная регистрация СМКП и ЭсКоГ в изученных структурах ЦНС проводилась у животных до и после интратекального введения наночастиц серебра (диаметр наночастиц 5 нм, в количестве 0,000005 г Ag в 20 мкл водного раствора). Анализировали спектральную мощность различных диапазонов ЭсКоГ и СМКП, статистическая значимость отличий оценивалась с использованием однофакторного дисперсионного анализа, при этом отличия с  $p < 0,05$  рассматривались как статистически значимые.

Установлено, что в ГП после введения наночастиц отсутствовали статистически значимые перестройки СМКП. В ВТО после введения наночастиц возникали статистически значимые изменения в секундном (0,1-0,5 Гц) и многосекундном диапазонах (0,0167-0,1 Гц)

СМКП. В ДЯШ после введения наночастиц наблюдались статистически значимые изменения всех диапазонов СМКП. В БКЯ после введения наночастиц возникали статистически значимые изменения в многосекундном диапазоне СМКП. Также были установлены статистически значимые изменения ЭсКоГ в ГП, ДЯШ, БКЯ и ВТО во всех поддиапазонах ЭсКоГ активности от 4 Гц и до 100 Гц, исключением являлись лишь две структуры – ГП и БКЯ: в них наблюдались изменения как в диапазоне от 4 до 100 Гц, так и в более медленном диапазоне (0,5-4 Гц), т.е. в этих структурах перестройки коснулись всего спектра частот ЭсКоГ. Параллельно с этим установлено, что изменения суммарной площади под спектрограммами абсолютной спектральной мощности ЭсКоГ и СМКП после введения наночастиц характеризуются в большинстве случаев статистически значимым снижением спектральной мощности этих типов активности после введения наночастиц.

Таким образом, введение наночастиц серебра вызывает изменения динамики СМКП в ВТО, ДЯШ, БКЯ в различных диапазонах частот. При регистрации ЭсКоГ во всех исследованных структурах после введения наночастиц возникали статистически значимые отличия практически во всех диапазонах частот (кроме  $\delta$  поддиапазона в ДЯШ и ВТО).

*Данное исследование дополняет существующие сведения о нейромедиаторных, когнитивных и поведенческих нарушениях, которые были выявлены в ряде работ после введения животным наночастиц металлов. Данное исследование проведено в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы и при поддержке гранта РФФИ (проект 14-04-00028).*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СИМПАТО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ У ПОДРОСТКОВ**

Крылова А.В.

Казанский федеральный университет, Россия, Казань

В регуляции висцеральных функций организма важнейшую роль играет симпато-адреналовая система, активность которой значительно изменяется в период полового созревания подростков.

Цель исследования: изучить возрастно-половые особенности функционирования симпато-адреналовой системы школьников-подростков и изменение активности системы в период полового созревания.

Обследовались практически здоровые подростки 11-16 лет, учащиеся общеобразовательной школы города Казани, занимающиеся физической культурой в рамках школьной программы. Функциональное состояние симпато-адреналовой системы оценивалось по экскреции адреналина, норадреналина, дофамина и ДОФА и их соотношению.

Установлено, что активность симпато-адреналовой системы школьников-подростков изменяется с возрастом в обеих половых группах. Динамика экскреции адреналина и норадреналина носит волнообразный характер. Значительное увеличение экскреции адреналина выявлено у девочек 12 и мальчиков 13 лет, где отмечается максимальная активность гормонального звена симпато-адреналовой системы. Интенсивное увеличение экскреции норадреналина выявлено у девочек 13 и мальчиков 14 лет. В последующих возрастных группах наблюдается относительное снижение экскреции катехоламинов с относительно ранней стабилизацией активности гормонального звена системы. Смещение баланса адреналин/норадреналин в сторону медиаторного звена наиболее выражено у старших школьников. Следовательно, в обеих половых группах формирование гормонального звена симпато-адреналовой системы происходит раньше, чем медиаторного.

Экскреция дофамина и ДОФА, отражающая резервные возможности системы, неуклонно увеличивается с возрастом. Прирост выше в группе мальчиков.

По нашим данным имеют место половые различия в величинах экскреции катехоламинов и ДОФА. Экскреция адреналина выше у девочек в 11-12 лет, у мальчиков в

13-14 лет. Экскреция норадреналина в 11-13 и 14-15 лет соответственно. У старших школьников эти различия нивелируются. В экскреции дофамина и ДОФА различия статистически значимы, показатели выше в группе мальчиков. Дефинитивный уровень функционирования симпато-адреналовой системы раньше достигается в группе девочек.

Закономерно, что в обеих половых группах наиболее значительное повышение активности симпато-адреналовой системы школьников отмечается в период полового созревания, которое протекает в разном режиме у мальчиков и девочек. Дифференцированный анализ параметров системы в зависимости от стадии полового созревания показал, что в обеих половых группах максимальная активность гормонального и медиаторного звена проявляется в период интенсивного пубертата (на 3-4 стадии полового созревания), где наблюдается максимальный прирост экскреции адреналина и норадреналина. На завершающей (пятой) стадии полового созревания происходит снижение активности звеньев анализируемой системы на фоне увеличения ее резервных возможностей и стабилизации показателей симпато-адреналовой системы на уровне, близком к дефинитивному.

Полученные нами результаты могут представлять интерес для педиатров, специалистов в области возрастной и спортивной физиологии, тренеров детских спортивных школ.

### **ПОКАЗАТЕЛИ СТРЕССРЕАКТИВНОСТИ И НЕЙРОДИНАМИКИ СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ НОРМАЛЬНОГО СИСТОЛИЧЕСКОГО АД**

Кувшинов Д.Ю.

ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава России  
Россия, Кемерово

Наличие артериальной гипертензии у лиц молодого и зрелого возраста ассоциируется с ухудшением показателей памяти, внимания, мышления (Lodder J., 2006). С другой стороны, высокое артериальное давление само может быть неоптимальным для некоторых когнитивных функций и нейродинамических параметров у лиц юношеского возраста.

У студентов КемГМА исследовали нейродинамические характеристики мозга с помощью автоматизированной программы «Статус ПФ» (Иванов В.И. с соавт., 2001). Исследовали работоспособность головного мозга (РГМ), реакцию на движущийся объект (РДО), уровень функциональной подвижности нервных процессов (УФП НП). Для оценки стрессреактивности (СР) использовали оценку «индивидуальной минуты» и функциональной пробу «Математический счет», результаты оценены в баллах.

Выяснилось, что у юношей с оптимальным и высоким нормальным АД систолическим имеется тенденция к более высокой стрессреактивности, чем у юношей с нормальным АДС. Работоспособность головного мозга у лиц с высоким нормальным АД имела тенденцию к увеличению, в этой же группе отмечался высокий уровень функциональной подвижности. РГМ девушек оказалась меньшей, чем у юношей. УФП девушек с оптимальным и высоким нормальным АДС мало отличались, но разнились от показателей девушек с нормальным АДС. По данным теста РДО у всех девушек преобладал возбуждательный процесс над тормозным, в группе лиц с высоким нормальным АДС наблюдалось равновесие между процессами возбуждения и торможения.



Таблица 1 Параметры стрессреактивности и нейродинамики юношей с разным уровнем АДС

Показатели	Лица с оптимальным АДС	Лица с нормальным АДС	Лица с высоким нормальным АДС	p
n	32	61	48	
Суммарный уровень СР (баллы)	3,16±0,08	3,04±0,06	3,18±0,07	-
РГМ (число сигналов)	559,44±17,69	559,31±11,46	570,42±10,10	*3 - 1,2
УФП (динамичность, мс)	76,69±3,95	75,67±2,21	73,15±0,81	-
РДО, возбуждательный процесс (мс)	27,84±2,91	29,11±1,44	28,17±1,69	-
РДО, тормозной процесс (мс)	23,03±1,20	23,56±0,83	27,46±1,73	*3 - 1,2

Таблица 2 Параметры стрессреактивности и нейродинамики у девушек с разным уровнем АДС

Показатели	Лица с оптимальным АДС	Лица с нормальным АДС	Лица с высоким нормальным АДС	p
n	280	132	33	
Суммарный уровень СР (баллы)	3,17±0,03	3,27±0,05	3,34±0,09	*3-1
РГМ (число сигналов)	548,8±4,51	549,35±7,43	546,68±12,94	-
УФП (динамичность, мс)	75,57±0,74	77,39±1,67	75,03±1,29	*2-3
РДО, возбуждательный процесс (мс)	36,68±1,00	38,58±1,51	38,55±3,3	-
РДО, тормозной процесс (мс)	35,61±0,89	35,48±1,24	37,32±2,25	
Качество сна (баллы)	88,21±0,64	88,61±0,91	107,84±20,16	*3-1,2

Таким образом, у лиц юношеского возраста существует взаимосвязь параметров нейродинамики и стрессреактивности с уровнем артериального давления.

### УМСТВЕННАЯ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ СТУДЕНТОК С РАЗНЫМ ТИПОМ ТЕМПЕРАМЕНТА

Кулакова О.С., Серова К.А., Тятенкова Н.Н.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова Россия, Ярославль

Умственная работоспособность зависит от множества факторов, среди которых особая роль отводится индивидуально-типологическим особенностям индивида. Тип темперамента определяет успешность человека в различных сферах деятельности, оказывает существенное влияние на эффективность и качество выполняемой работы. В связи с этим цель проделанной работы состояла в выявлении взаимосвязи между типом темперамента и показателями умственной работоспособности.

В исследовании приняли участие 50 студенток 2-4 курсов факультета биологии и экологии Ярославского государственного университета им. П. Г. Демидова, разделенные на группы в зависимости от типа темперамента. Для определения типа темперамента использовали тест Г. Айзенка. Для изучения показателей функции внимания использовалась корректурная проба (тест Бурдона). Измерения проводили в осенне-зимний период, в первой половине дня, в середине учебной недели. Были рассчитаны скорость (переключаемость) внимания, коэффициент умственной продуктивности, коэффициент правильности выполнения задания. Полученные результаты обрабатывались статистически.

Согласно полученным результатам, максимальное количество просмотренных букв отмечено в группе холериков, минимальное – у флегматиков. При этом холерики допускают достоверно больше ошибок при выполнении задания по сравнению с флегматиками.

Скорость внимания - скорость произвольной смены объектов психических процессов. Это качество внимания в значительной мере зависит от уравновешенности и подвижности нервных процессов. Результаты проведенного обследования позволили сделать заключение, что показатели скорости внимания достоверно отличаются у студенток с различным типом и уменьшаются в ряду: холерики → меланхолики → сангвиники → -флегматики. Анализ средних значений показал, что максимальная скорость внимания ( $4,5 \pm 1,7$  ед.) отмечена в группе холериков, наименьшая ( $2,9 \pm 0,5$  ед.) - у флегматиков.

Наиболее высокий коэффициент умственной продуктивности или степень точности выполнения задания выявлена у меланхоликов ( $1595,4 \pm 527,5$ ). Анализ результатов исследования показал, что умственная продуктивность убывает в ряду меланхолики → холерики → флегматики → сангвиники.

Таким образом, холерики обладают наибольшей скоростью выполнения работы и самым низким ее качеством, для них также характерна низкая устойчивость внимания. У флегматиков отмечается низкая скорость выполнения работы при высоком качестве.

*Работа выполнена при поддержке проекта № 544 в рамках базовой части государственного задания на НИР Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова.*

## **СЛИЯНИЕ НЕЙРОНОВ И ПОЛУЧЕНИЕ ДВУЯДЕРНЫХ КЛЕТОК МОЛЛЮСКА**

Лактионова А.А.

ФГБУ науки Институт физиологии им. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Двужадерные нервные клетки впервые были обнаружены еще Ремаком в 1837г. С тех пор они сотни раз исследовались многочисленными гистологами. Двужадерные нейроны показаны в различных центральных и периферических отделах нервной системы у человека, свиньи, кролика, кошки, собаки, крысы, и других животных, как в норме, так и при патологии. Хотя физиологическое значение двужадерных нейронов пока не ясно, но наличие таких клеток отрицать уже нельзя. Вопрос о двужадерных нервных клетках затрагивает фундаментальную проблему синцитиальной связи в нервной системе, и вопрос неделимости высококодифференцированных нейронов. Поэтому целью наших исследований стало изучение возможности слияния нейронов и получения двужадерных нервных клеток.

Нейроны моллюска *Lymnaea stagnalis* освобождали от соединительнотканной капсулы ганглия и сателлитной глии с помощью протеолитической обработки. В результате получали нервные клетки, лишенные глии. Затем эти клетки помещали в культуральную среду и с помощью центрифугирования (3000 оборотов в минуту, 15 мин) агрегировали и сохраняли в таком виде в культуральной среде в течение двух суток. Этого времени в культуральной среде как раз достаточно для слияния лишенных глии нейронов. Затем с помощью стандартной трансмиссионной электронной микроскопии исследовали ультраструктуру границ контактирующих нейронов. Контактующие тела нейронов формируют 8-образные структуры, которые отделяются вакуолеподобными образованиями, которые образуются путем значительных локальных расширений межклеточных щелей.

На полутонких срезах, вдоль контактирующих границ нейронов, удается обнаружить формирование множественных выпячиваний (цитоплазматических мостиков). Чередующиеся "мостики" и вакуолеподобные образования располагаются четко по границам клеток и могут служить достоверным ориентиром этих границ под световым микроскопом. Мостики представляют собой синцитиальные связи, объединяющие цитоплазму смежных клеток.

С помощью электронного микроскопа показано, что большинство мембран, разграничивающих цитоплазму соседних клеток в области мостиков, отсутствуют. У ряда

контактирующих нейронов, вместо наружных клеточных мембран, обнаруживаются только короткие остаточные мембранные фрагменты. В остальных местах нейроплазма непосредственно переходит из одной клетки в другую.

Таким образом, в опытах удалось осуществить слияние нейронов и получить двуядерные клетки. Тем самым показан механизм формирования двуядерности с помощью синцитиального слияния и подтверждены полученные нами ранее данные о том, что в нервной системе, помимо химических синапсов и контактной мембранной связи существует третий тип межклеточных коммуникаций – синцитиальная связь.

## **ПОКАЗАТЕЛИ АЗОТИСТОГО ОБМЕНА КАК МАРКЕРЫ ПСИХИЧЕСКОГО ЗДОРОВЬЯ**

Леорда А.И., Фурдуй В.Ф., Гараева С.Н., Редкозубова Г.В., Постолати Г.В., Сула М.И.  
Институт физиологии и санокреатологии АН, Молдова, Кишинев

Уровень психического здоровья человека определяется нейрофизиологическим (генетически детерминированные функции нейрофизиологической интегральной и биохимической систем мозга), когнитивным, эмоционально-чувственным, социально-поведенческим, личностно-смысловым и речевым компонентами (Фурдуй Ф.И. и др., 2012). Например, эпилепсия, характеризующаяся повторяющимися приступами нарушений сенсорного восприятия, двигательных, вегетативных, психических функций, развивается вследствие чрезмерных нейронных разрядов, при сочетании наследственного предрасположения с морбидными экзогенными факторами. Нарушение интегрального взаимодействия функций различной модальности и координационной деятельности анализаторов приводят к ограничению восприятия на уровне ощущений и выраженной сенсорной депривации. Так, ДЦП развивается в результате поражения головного и спинного мозга на ранних стадиях внутриутробного развития плода и в процессе родов, и характеризуется отставанием формирования когнитивных процессов, что тормозит развитие ребенка в целом. Аутизм также является следствием системных нарушений функций мозга, которые могут быть вызваны различными отклонениями в функционировании ведущих регуляторных систем, таких как нейротрансмиттерная, иммунная, гормональная. Для детей с установленным диагнозом аутизма характерны стереотипное поведение, часто нарушения интеллектуального развития. Исходя из изложенного, вследствие генетических, внутриутробных, родовых или антенатальных нарушений нейрофизиологического компонента психического здоровья развивается психический дизонтогенез, выражающийся в поражениях когнитивной, эмоционально-чувственной и социально-поведенческой составляющих психического здоровья.

Нами было проведено исследование особенностей пула свободных аминокислот (САК) сыворотки крови у детей 2-6 лет с установленным диагнозом аутизма, ДЦП, эпилепсии и здоровых детей того же возраста. Анализ САК осуществлялся методом жидкостной ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе ААА-339 М, Чехия.

Для всех патологий характерны выраженный дисбаланс серосодержащих и медиаторных САК, снижение индекса *незаменимые/заменимые* аминокислоты, гипераммониемия и сниженный синтез мочевины. Эти показатели сыворотки крови являются, по-видимому, неспецифическими для диагностики неврологических заболеваний.

Спектр САК сыворотки крови детей с исследованными патологиями имеет ряд специфических особенностей. Для аутизма специфичны достоверно и значительно повышенные концентрации  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты, ГАМК, триптофана и орнитина. У детей с ДЦП характерен достоверно и значительно сниженный уровень таурина, триптофана, орнитина. При эпилепсии в период ремиссии достоверно снижен уровень фенилаланина. Указанные показатели в сыворотке крови могут служить специфическими биохимическими маркерами данных патологий.

Приведенные выше данные подтверждают санокреатологическую концепцию, согласно которой нарушение психического здоровья, как и саногенное его становление, будучи интегративным процессом высшей нервной деятельности, предопределяется программой развития организма, реализуемой в онтогенезе за счет генетически детерминированных нейрофизиологической интегральной и нейрохимической систем мозга, а также психофункциональных и оценочно-исполнительных систем, формирующихся за счет действия факторов внешней среды (Фурдуй Ф.И. и др., 2012).

## ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ У ДЕТЕЙ АУТИСТОВ

Леорда А.И., Гараева С.Н., Редкозубова Г.В., Постолати Г.В., Нарбутавичюс В.И.,  
Попеня В.Ю.

Институт физиологии и санокреатологии АН, Молдова, Кишинев  
Приднестровский Государственный Университет, ПМР, Тирасполь

Психическое здоровье реализуется «нейрофизиологической интегральной и нейрохимической системами мозга, детерминированными генетической программой развития организма, а также психофункциональными и оценочно-исполнительными системами, формирующимися в онтогенезе под влиянием факторов окружающей среды» (Ф.И.Фурдуй с сотр., 1999-2012). Возраст от 2,5 до 6 лет является периодом интенсивного умственного развития, восприятия эмоционально переживаемой информации при активной социализации ребенка, поэтому представляется важным выявить взаимосвязь социально-поведенческого и нейрофизиологического компонентов психического здоровья детей этого возраста. Адекватной моделью являются дети с установленным диагнозом аутизма. В настоящее время преобладает мнение о полиэтиологии аутизма. Нарушения обмена свободных аминокислот (САК) признаны одной из причин возникновения различных дисфункций нервной системы, что способствует развитию ряда нервных и психических заболеваний в детском возрасте.

Нами было проведено исследование особенностей пула свободных аминокислот (САК) сыворотки крови у детей 2-6 лет с установленным диагнозом аутизма и здоровых детей того же возраста. Анализ САК осуществлялся методом жидкостной ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе ААА-339 М, Чехия. Приводятся только достоверные ( $P \leq 0,05$ ) изменения САК.

Анализ полученных данных показывает, что суммарное содержание САК в сыворотке крови аутистов снижено в 1,4 раза, в первую очередь, за счет незаменимых САК. Наиболее значительно снижена концентрация таких аминокислот, как: треонин в 3,8 раза, лизин в 1,6 раза, гистидин в 2,7 раза, глутамин в 2,1 раза, глутамат в 2,2 раза, аспарагин в 2,1 раз, аспарат в 1,5 раза, в 1,9 раз. Сниженное содержание дикарбоновых САК может свидетельствовать, во-первых, о недостаточном энергетическом обеспечении мозга аутистов, а во-вторых, о возможном наличии энцефалопатии, что подтверждается увеличением содержания аммиака в крови. С другой стороны было выявлено повышение уровня некоторых САК:  $\gamma$ -АМК в 3,6 раза,  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты в 2,3 раза,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты в 2,0 раза. Необходимо отметить изменение содержания конечных продуктов азотистого обмена в сыворотке крови аутистов по сравнению с контрольной группой: концентрация мочевины снижена в 2,6 раза, в то время как концентрация аммиака повышена в 1,3 раза. Выявленное нами увеличение индекса *тормозные/возбуждающие* САК в 1,8 раза свидетельствует о преобладании тормозных процессов в головном мозге аутистов.

Отдельно необходимо отметить дисбаланс серосодержащих САК в сыворотке крови аутистов: отмечается снижение содержания метионина (в 1,4 раза) и увеличение уровня цистеина (в 2,6 раза), в то же время таурин и цистеиновая кислота не изменены. Ранее была показана возможность использования серосодержащих аминокислот, в качестве маркеров уровня здоровья, так как с их относительным содержанием связаны клеточный и

гуморальный иммунитет, активация функции лимфоцитов, а также антиоксидантная активность клеток (Чокинэ В.К. и др. 2011).

Результаты исследования содержания концентрации аминокислот в крови и моче делают вероятным предположение об их участии в развитии дисфункций структур мозга вследствие дисбаланса серосодержащих, медиаторных, протеиногенных САК. Биохимическими маркерами аутизма в сыворотке крови могут служить дисбаланс серосодержащих аминокислот в сочетании с нарушением орнитинового цикла дезактивирования аммиака, увеличение индекса *тормозных/возбуждающих* САК. Полученные результаты могут быть использованы в ранней диагностике аутизма.

## **РОЛЬ СЕРТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ 5-НТ4 ПОДТИПА В МЕХАНИЗМАХ МОДУЛЯЦИИ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ**

Любашина О.А., Бусыгина И.И., Сиваченко И.Б., Пантелеев С.С.

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

Хорошо известно, что серотониновые рецепторы 5-НТ4 подтипа играют важную роль в реализации эффектов своего лиганда на функции внутренних органов. В частности установлено, что их активация стимулирует перистальтический рефлекс и секрецию электролитов на разных уровнях желудочно-кишечного тракта. На этом основании агонисты 5-НТ4-рецепторов широко используются в медицине в качестве прокинетики при лечении функциональных заболеваний пищеварительного тракта, сопровождающихся его гипомоторикой. Между тем полученные в последние годы данные свидетельствуют, что стимуляция рецепторов 5-НТ4 подтипа может способствовать антиноцицепции и уменьшать проявление абдоминальных болевых синдромов. В реализации данного эффекта определенную роль отводят периферическим 5-НТ4-зависимым механизмам. Однако имеющиеся сведения о локализации и важных нейромодуляторных функциях данного подтипа рецепторов в структурах лимбической системы и ствола мозга, входящих в состав эндогенных антиноцицептивных систем, позволяют полагать, что 5-НТ4-агонисты могут оказывать влияние и на центральные процессы обработки висцеральной болевой информации. Для проверки этой гипотезы мы провели серии экспериментов на бодрствующих беспородных собаках и анестезированных уретаном (1.5 г/кг, в/бр) крысах линии Вистар, в которых изучали эффекты селективных агонистов 5-НТ4-рецепторов прукалоприда и ВІМU8 на поведенческую реакцию животного на абдоминальную боль и ассоциированную с ней активность нейронов продолговатого мозга. Для инициации абдоминальной боли в обоих случаях использовали ноцицептивное (давлением воздуха 80 мм рт.ст.) растяжение колоректальной области толстой кишки (КРР) с помощью резинового баллона. У бодрствующих собак КРР вызывало, так называемую, псевдоаффективную реакцию, ведущими компонентами которой являлись резкие сокращения мышц живота (висцеромоторный рефлекс) и увеличение частоты сердечных сокращений (тахикардия). Внутримышечное введение прукалоприда в дозе 0.1 мг/кг приводило к угнетению висцеромоторного и сердечного компонентов этой реакции в среднем на  $51 \pm 11\%$  и  $52 \pm 7\%$  соответственно. Значимый эффект проявлялся через 30 мин после инъекции и был максимально выражен к концу регистрации (90 мин). В экспериментах на крысах внутривенное введение ВІМU8 в дозе 1 мг/кг оказывало тормозный эффект на вызванную КРР активность нейронов вентро-латеральной ретикулярной области продолговатого мозга. Уменьшение средней частоты нейрональных разрядов составляло в среднем  $44 \pm 14\%$ , проявлялось через 30 мин после введения и достигало максимума к 60 мин эксперимента. Таким образом, впервые продемонстрирован центральный антиноцицептивный эффект селективной активации 5-НТ4-рецепторов при абдоминальной боли, который может являться одним из компонентов терапевтического действия их агонистов при синдроме раздраженного кишечника и других функциональных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сопровождающихся болевым синдромом.

## **МЕТОД ДИФУЗИИ КАРБОЦИАНИНОВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАННИХ ЭТАПОВ РАЗВИТИЯ ПРОВОДЯЩИХ СИСТЕМ ГИПОТАЛАМУСА**

Макаренко И.Г.

Институт биологии развития РАН, Россия, Москва

Липофильные карбоцианиновые красители стали применяться для нейроморфологических исследований в конце двадцатого века (Godement et al.1987, Honig and Hume, 1989) изначально для изучения периферических систем связей. Главным преимуществом этих красителей для изучения ранних этапов развития мозга является то, что они применимы для работы с фиксированным мозгом, и не требуют прижизненного стереотаксического введения, обязательного для других трейсеров аксональных связей. Несмотря на то, что известны несколько видов карбоцианиновых красителей с разными спектрами флуоресценции, используется преимущественно DiI (,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate) как ретроградный или антероградный маркер.

В настоящем докладе будет дана оценка преимуществ и ограничений использования DiI на основе данных литературы и собственных исследований перинатального развития связей гипоталамуса. Нами исследована последовательность и особенности формирования нескольких проводящих систем гипоталамуса: гипоталамо-гипофизарный тракт (включая гипоталамические проекции, на заднюю и промежуточную доли гипофиза и срединное возвышение); связи мамиллярных тел (мамиллотегментальный и мамиллоталамический); реципрокные септогипоталамические связи. Некоторые из них развиваются довольно рано в эмбриогенезе, а другие начинают формироваться лишь постнатально.

Будут обсуждены принципиальные факты: 1) Оценка распределения DiI в месте нанесения ; 2) Специфичность мечения связей с помощью DiI; 3) Сравнение использования DiI и DiA; 4) Преимущества использования конфокальной микроскопии для анализа материала, содержащего DiI; 5) Мечение нейроэпителиальных клеток; 6) Контроли в экспериментах с DiI; 7) Преимущества и ограничения метода; 8) Возможные направления развития исследований с DiI.

Мы уверены, что, несмотря на имеющиеся ограничения использование DiI, как маркера для исследования развития связей у плодов и неонатальных животных, представляет огромный интерес. Полученные результаты являются основой для формирования общих представлений о развитии внутримозговых проводящих систем.

## **НЕЙРОПЕПТИД Y-ЕРГИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ СЕРДЦА КРЫСЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

Маслюков П.М., Моисеев К.Ю., Емануйлов А.И.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Нейропептид Y (НПУ) весьма распространен в автономной нервной системе. Тем не менее, возрастные аспекты синаптической передачи в автономной нервной системе с участием нейропептида Y остаются неясными, в том числе и степень экспрессии различных типов рецепторов к НПУ в постнатальном онтогенезе. Целью настоящей работы явилось определение НПУ-позитивных нейронов симпатических и интрамуральных узлов, иннервирующих сердце, а также изучение нейропептид Y-опосредованной синаптической передачи при помощи иммуногистохимических методов. Работа выполнена на новорожденных, 7-, 20-, 30-, 60-, 180-суточных крысах (по 5 в каждой возрастной группе). С целью выявления НПУ, а также рецепторов к НПУ типов Y1 и Y2 применялось двойное мечение соответствующими антителами фирмы Abscam.

Результаты исследования показали, что НПУ-позитивные нейроны выявлялись в звездчатом симпатическом узле и интрамуральных узлах сердца у животных всех возрастных групп. НПУ-содержащие волокна обнаруживались в миокарде уже с момента рождения и на протяжении остальных изучаемых возрастных периодов. Доля НПУ-позитивных нейронов в звездчатом узле возрастала между 10 и 30 сутками жизни. С момента рождения в интрамуральных ганглиях в правом и левом предсердии выявлялся небольшой процент НПУ-иммунопозитивных нейронов. В первые 10 суток жизни их процент существенно возрастал. Начиная с первого месяца жизни, свыше 90% нейронов интрамуральных узлов сердца оказывались НПУ-иммунопозитивными.

Рецепторы к НПУ типа Y1 и Y2 обнаруживались в сердце у новорожденных и более взрослых животных. Y1 рецепторы располагались достаточно густо в сердце в коронарных артериях, артериолах и кардиомиоцитах. Плотность рецепторов Y2 к НПУ в миокарде была заметно меньше по сравнению с рецепторами Y1 у всех возрастных групп. Не было выявлено достоверных различий по плотности рецепторов между различными возрастными группами.

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что нейроны симпатических и интрамуральных метасимпатических ганглиев к моменту рождения содержат НПУ. В большинстве симпатических узлов у грызунов в процессе возрастного развития происходит увеличение доли НПУ-содержащих нейронов. Вероятно, НПУ-ергическая система регуляции сократимости миокарда особенно важна на ранних этапах возрастного развития, когда сеть норадренергических симпатических волокон оказывается недостаточно развитой. Детальное исследование нейропептид Y-ергической системы позволит существенно расширить наши представления о нейропептидной системе регуляции физиологических функций.

*Работа поддержана РФФИ (грант 13-04-00059-а).*

## **СИСТЕМА АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ ПАТЧЕЙ LP1 ЯДРА ТАЛАМУСА КОШКИ: ПОСТНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ И ФУНКЦИИ**

Меркульева Н.С.

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук,  
Россия, Санкт-Петербург.

Практически вся сенсорная информация достигает церебральную кору после переключения в таламусе. Сенсорные зрительные таламические ядра подразделяют на «ядра первого порядка», получающие основной объём афферентации из нижележащих отделов мозга (например, наружное коленчатое тело), и «ядра высокого порядка», получающие значительный объём информации из коры (Guillery & Sherman, 2002). К ядрам второго типа относят LP-pulvinar комплекс, состоящий из латерального (LP1) и медиального (LPm) ядер и собственно подушки (pulvinar). С помощью техники ретроградного аксонального мечения (использование трейсера пероксидазы хрена) показано, что паттерн распределения в LP1 ядре нейронов, организующих связи к зрительной коре, неоднороден: в наиболее каудальной области ядра нейроны группируются в кластеры. Однако до сих пор не была обнаружена основа этих кластеров, поскольку в LP1 ядре не было выявлено какой бы то ни было неоднородности в распределении нейронов по свойствам ответов или по химизму. Начав поиск этой основы, мы проанализировали распределения в LP-pulvinar комплексе фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ), катализирующей гидролиз ацетилхолина. Этот фермент представляет для нас особый интерес, поскольку ацетилхолин является не только нейротрансмиттером, но и нейромодулятором; более того, во время позднего пренатального и раннего постнатального периода онтогенеза в зрительной коре и передних холмах была отмечена временно высокая экспрессия АХЭ. Таким образом, мы предположили существование связи между экспрессией АХЭ и процессом развития кластерных межнейронных связей. Исследование было проведено на 21 кошках в возрасте 0.5; 1.5; 2; 3;

4; 5 и 14 постнатальных недель (по 3 животного у группы). Выявление АХЭ проводили на фронтальных срезах мозга, с помощью гистохимической методики (Schätz, Veh, 1987). Как известно, у взрослых животных ядро LPI отличается от соседних с ним ядер низким уровнем АХЭ. Однако картина распределения активности АХЭ в LPI ядре у котят в возрасте 0.5-3 недель иная: в наиболее каудальной части ядра выявлены патчи с высоким уровнем экспрессии фермента, размером 200-250 мкм; расстояние между центрами патчей составило в среднем 500 мкм. На каждом из срезов визуализируется по три АХЭ патча. Уровень активности АХЭ в патчах определяли, вычисляя относительную оптическую плотность по формуле Майкельсона. Величина относительной оптической плотности составила  $0.022 \pm 0.007$  – у животных в возрасте 0.5 недель;  $0,083 \pm 0.009$  – у животных в возрасте 1.5 недель;  $0,101 \pm 0.007$  – у котят в возрасте 2 недель и  $0,060 \pm 0.006$  – у животных в возрасте 3 недель. Таким образом, была выявлена временная динамика развития АХЭ патчей: возникновение на момент рождения или незадолго до этого, достижение максимума к возрасту 2 недель и дальнейшее угасание. У котят старше 4 недель выявить АХЭ патчи обычным способом было невозможно; однако применение пространственно-частотной фильтрации изображений позволило визуализировать патчи у некоторых животных. Для таких животных (трое, в возрасте 6, 12 и 14 недель) мы сопоставляли паттерн распределения АХЭ с паттерном распределение кластеров нейронов, организующих связи к зрительной коре, меченых ретроградным трейсером пероксидазой хрена. Показано, что эти паттерны строго противоположны друг-другу: большинство меченых нейронов (92-95%) локализуется за пределами АХЭ патчей. Таким образом, нами было впервые выявлено существование в LPI ядре незрелых котят системы патчей с высоким уровнем активности фермента АХЭ. Полагаем, что выявленная транзиторная система АХЭ патчей принимает участие в раннем формировании таламокортикальных связей, предшествующем классическому критическому периоду.

*Работа поддержана грантом ОФФМ «Интегративная физиология».*

### **ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ NO-СОДЕРЖАЩИХ НЕЙРОНОВ ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ УЗЛОВ КРЫСЫ ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ КАПСАИЦИНОМ**

Моисеев К.Ю., Маслюков П.М., Корзина М.Б., Смирнова В.П., Сгонник А.В., Порсева В.В. Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

В последние годы установлена важная роль оксида азота NO в осуществлении передачи болевой информации (Molliver, Santers, 1995). NO может оказывать двоякое действие на ноцицепцию, как стимулирующее, так и тормозящее. Однако данные о развитии афферентных нейронов, содержащих NO в онтогенезе в литературе крайне малочислены.

Целью исследования явилось определение особенностей нейрохимического состава и морфометрических характеристик нейронов чувствительных узлов, содержащие NO синтазу (NOS). Исследование проводили на 30 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 10, 30 и 180 суток после рождения, которые были разделены на две группы: контрольная (n=15), опытная (n=15). В опытной группе на вторые сутки жизни крыс моделировали деафферентацию путем однократного подкожного введения капсаицина. В последующем, нейрохимический состав нейронов чувствительных узлов крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные) исследовался иммуногистохимическим методом с использованием двойного мечения. Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

**Результаты:** Нейроны, содержащие NOS, выявлялись в чувствительных узлах: каудальном узле блуждающего нерва (КУБН), спинномозговых узлах (СМУ) Th2 и L4 у крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-суточные, двух-, шестимесячные, одно-, двух-, трехлетние). Результаты показали, что максимальное количество NOS-содержащих клеток отмечалось у 10 суточных животных. В последующие 20 суток происходило заметное



снижение доли NОС-позитивных нейронов во всех чувствительных узлах. У 10- и 20-суточных животных большинство NОС-содержащих нейронов проявляло иммунореактивность к изолектину IV4 и кальцитонин-ген-родственному пептиду и иммунонегативность к нейрофиламенту 200 и кальретинину. В СМУ 10- и 20-суточных крыс наблюдался больший процент NОС-позитивных нейронов по сравнению с КУБН, а у 30-суточных и более взрослых наблюдались обратные соотношения. Окончательно популяция NОС-содержащих нейронов становится по морфо-функциональным характеристикам сопоставима со взрослыми животными к второму месяцу жизни крыс.

**Выводы:** Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что в результате применения избранной модели химической деафферентации капсаицином NОС-иммунопозитивные нейроны претерпевают резкие изменения. При этом уменьшается процентное содержание NОС-позитивных нейронов и нарушается возрастная динамика их развития

### **ВЛИЯНИЕ ЗАКИСЛЕНИЯ ЦИТОПЛАЗМЫ ДВИГАТЕЛЬНОГО НЕРВНОГО ОКОНЧАНИЯ ДИАФРАГМЫ МЫШИ НА СЕКРЕЦИЮ МЕДИАТОРА И РЕЦИКЛИРОВАНИЕ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ.**

Мухамедзянов Р.Д.

Казанский государственный медицинский университет, Россия, Казань

Эксперименты проведены на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы белых мышей. Мышцу растягивали и фиксировали в стеклянной ванночке объемом 5 мл в условиях непрерывной перфузии раствором Кребса для теплокровных животных. Для блокирования сокращений и потенциалов действия мышечных волокон использовали тубокурарин в концентрации  $2\text{-}5 \cdot 10^{-6}$  моль/л. Для закисления цитоплазмы нервного окончания (НО) использовали растворы Кребса в котором 50% NaCl были замещены на пропионат Na. Эксперименты начинали после выдерживания препаратов в таком растворе в течение 40-60 мин. Двигательный нерв раздражали прямоугольными импульсами длительностью 0.1-0.2 мс. Для регистрации потенциалов концевой пластинки (ПКП) использовали внутриклеточное отведение. Схема эксперимента была следующей. Двигательный нерв раздражали с частотой 20 имп./с в течение 3 минут (первая серия высокочастотного раздражения). Затем частоту стимуляции снижали до 0.3 имп./с и регистрировали восстановление амплитуды ПКП. Через 40 мин после окончания первой серии производили вторую серию высокочастотного раздражения.

Раздражение двигательного нерва диафрагмы мышцы с частотой 20 имп/с в течение 3 мин приводило к выраженному снижению амплитуды ПКП, которое развивалось в течение первых 5-10 импульсов. Затем амплитуда ПКП стабилизировалась на уровне 30- 50% от исходной (состояние плато) и практически не изменялась в течение всего периода раздражения. Через 3 мин раздражения амплитуда ПКП составляла  $27 \pm 2$  %. Восстановление амплитуды ПКП до исходного уровня после 3 мин высокочастотного раздражения происходило очень быстро (время полу восстановления – 5-10 сек.). Во время второй серии раздражения динамика снижения амплитуды ПКП была аналогичной. Суммарная амплитуда ПКП, рассчитанная по первой и второй серии трех минутного высокочастотного раздражения не отличались. Замена 50% NaCl на пропионат Na не оказывала существенного значения на динамику амплитуды ПКП как во время первой, так и второй серии высокочастотного раздражения. Количественные характеристики секреции медиатора, рассчитанные по первой и второй серии раздражения не отличались от контрольных.

Литературные данные свидетельствуют о том, что закисление аксоплазмы двигательных НО приводит к угнетению эндоцитоза и рециклирования синаптических везикул. Отсюда, приступая к своим исследованиям, мы предполагали, что замена половины NaCl на пропионат Na, что приводит к уменьшению рН цитоплазмы с 7,5 до 7,0, будет сказываться на динамике секреции медиатора из двигательных НО при длительном высокочастотном

раздражении. Отсюда нарушение эндоцитоза на фоне пропионата Na должно через 1 мин высокочастотного раздражения приводить к углублению депрессии секреции медиатора. Однако выдерживание нервно-мышечных препаратов в течении часа в растворе с пропионатом Na ни как не сказывалось на динамике амплитуды ПКП в первой серии 3 минутного высокочастотного раздражения в синапсах мышцы, что свидетельствует об интактности процессов повторного использования везикул. Следовательно в НО теплокровных закисление цитоплазмы никак не сказывается на процессах экзо- и эндоцитоза и рециклирования везикул.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № РФФИ 14-04-01232-а.*

## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ СЛОЖНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Мышкин И.Ю., Станкова Е.П.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова Россия, Ярославль

Поскольку живые объекты являются открытыми динамическими системами, они обладают определенной «мерой хаоса». Поэтому, динамику многих биологических систем в принципе невозможно описать набором периодических составляющих, так как она содержит нерегулярную, хаотическую компоненту. Анализ таких систем проводится в рамках нелинейной динамики. Применение нелинейно-динамического подхода позволяет оценить, как функционирует исследуемая система: регулярно или нет, а, кроме того - насколько сложна ее динамика. Мерой сложности исследуемого процесса, может быть ее корреляционная размерность. Показатель корреляционной размерности является «мерой хаоса», иначе - сложности процессов протекающих в системе - чем выше этот показатель, тем выше уровень хаоса в системе. Особенно актуально применение такого подхода в электроэнцефалографических исследованиях. Считается, что корреляционная размерность ЭЭГ отражает меру сложности взаимодействий различных нейронных ансамблей.

Наши исследования были посвящены оценке функциональной роли изменения сложности процесса в условиях нормы и патологии. В качестве рабочей гипотезы мы приняли положение о том, что разнообразие, «сложность» периодических электрических процессов мозга отражает не его только функциональное состояние, но и определяет продуктивность и успешность когнитивной деятельности. Наиболее уникальной и важной функцией мозга является память. Память это системное свойство и по логике он может быть связано с другим и системным свойством – разнообразием, «сложностью» биоэлектрических процессов мозга. Результаты показали, что между величиной корреляционной размерности ЭЭГ и объемом кратковременной памяти действительно существует зависимость. Индивидуумы, имеющие более высокие величины корреляционной размерности ЭЭГ демонстрировали более высокий объем кратковременной памяти. Коэффициент линейной корреляции при ( $p > 0,05$ ) и находился в пределах  $+0,3 \div +0,4$  для разных зон отведений. В другой серии экспериментов была проанализирована связь показателя корреляционной размерности ЭЭГ и суммарного критерия уровня интеллекта – IQ, который измеряли с помощью компьютерного варианта теста Амтхауэра. Была обнаружена нелинейная положительная связь уровня интеллекта, определяемого по коэффициенту IQ и индивидуальными величинами уровня корреляционной размерности ЭЭГ. Значимую корреляцию выявили между показателем интеллекта – IQ и величинами корреляционной размерности ЭЭГ лобных областей ( $r = +0,49$ ). Для других областей тенденция тоже была положительной, но не значимой.

Другой процесс, в котором исследовали роль явления «сложности» - вариабельность сердечного ритма (ВСР). Как известно, ВСР отражает сложную многоуровневую систему регуляции сердечного ритма. Для исследования были взяты две полярные группы: условно здоровые – студенты в возрасте 18-20 лет и 20 пациентов кардиологического отделения с различными формами сердечной патологии без предварительного отбора. У здоровых субъектов величина корреляционной размерности вариационного ряда R-R интервалов ЭКГ

находилась в диапазоне от 2,23 до 3,41 единиц. У больных величина корреляционной размерности составляла от 0,41 до 1,84, причем в большинстве случаев наблюдали тенденцию уменьшения абсолютного значения корреляционной размерности по мере тяжести заболевания.

Таким образом, корреляционная размерность как показатель сложности процесса может служить глобальным предиктором, для оценки нормального состояния системы, так и свидетельствовать об отклонении ее функционирования от оптимальных величин. Проведенные исследования подтвердили первоначальную гипотезу о том, что разнообразие периодических электрических характеристик мозга отражает особенности когнитивных процессов личности.

## **УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ BDNF В МОЗГЕ КРЫС С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПЕПТИДА "СЕМАКС"**

Николаева Н.С., Кулага Е.А., Гаврилова С.А., Буравков С.В., Кошелев В.Б.  
Факультет Фундаментальной медицины, Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва

**Введение.** Препарат "Семакс", фрагмент АКТГ<sub>4-10Pro-Gly-Pro</sub>, разработан как ноотропное средство, повышающее работоспособность мозга. Показано, что он влияет на все механизмы отсроченной гибели нейронов и защищает мозг от ишемического повреждения, тонкие механизмы действия пептида мало изучены. В настоящем исследовании проверили гипотезу о нейропротекторном действии пептида через увеличение продукции BDNF.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на самцах крыс массой 300-350 г. Инсульт моделировали необратимой электрокоагуляцией ветвей средней мозговой артерии (ЭСМА) с одновременной необратимой перевязкой ипсилатеральной сонной артерии (НИ) или выполняли ЭСМА с пережатием двух сонных артерий на два часа с последующей реперфузией (ИР). "Семакс" вводили внутривентрикулярно, 150 мкг/кг через 15 минут и через 2 часа 15 минут от начала ишемии. Контроль получал воду для инъекций эквивалентно. Оценивали: влияние "Семакса" на объем поражения планиметрически через 72 ч. от НИ или ИР; динамику экспрессии гена BDNF методом ПЦР через 1, 3 и 7 ч. от ЭСМА в модели НИ и через 3, 7, 24 часа от ЭСМА в условиях ИР; в срезах мозга, окрашенных по Нисслю, рассчитывали нейроглиальный показатель (НГП) через 7, 24 часа и 28 суток после НИ или ИР; иммуногистохимически выявляли нейроны, продуцирующие BDNF V слое коры больших полушарий у крыс при НИ через 7 и 24 часа после операции.

**Результаты и обсуждение.** "Семакс" снизил размер некроза на 56% у крыс с НИ и на 27,7% в группе ИР. Экспрессия мРНК BDNF имеет сложную динамику: резкое увеличение в первый час после НИ, что закономерно, т.к. BDNF является геном раннего реагирования, снижение через 3 и 7 часов после ишемии в поврежденном полушарии, Эффект, возможно, связан с нарушением кровотока. Через 3 часа рост мРНК BDNF в интактном полушарии объясняем перераспределением кровотока в зеркальный участок. Иммуногистохимический анализ выявил увеличение белка BDNF в оперированном полушарии головного мозга крыс, получавших "Семакс", через 24 часа после НИ, что может являться одним из механизмов нейропротекторного действия пептида. Влияния "Семакса" на НГП через 24 и 72 часов не обнаружили, т.е. "Семакс" избирательно не повлиял на процесс гибели нейронов или глии некрозом. В отставленный период, через 28 суток как НИ, так и ИР увеличили НГП по сравнению с контрольной группой за счет разрастания глии. "Семакс" уменьшил НГП и в той, и в другой группе, снизив пролиферацию глии.

**Выводы.** "Семакс" снизил размер некроза, возможно за счет влияния на продукцию BDNF в области пенумбры, и изменил нейро-глиальное соотношение в сторону снижения пролиферации глии.

## **НЕЙРОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕОКОРТЕКСЕ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСТРОЙ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ У КРЫС**

Отеллин В.А., Хожай Л.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им.И.П.Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Одной из основных причин возникновения перинатальной энцефалопатии у новорожденных является воздействие разного рода гипоксии в неонатальный период. В работе на лабораторных животных (крысах линии Wistar) на модели недоношенной беременности человека изучались морфологические изменения в разных областях неокортекса (фронтальной, зрительной, сенсомоторной, слуховой) после воздействия острой гипоксии на 2-3 сутки после рождения. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследования показали, что в разные сроки постнатального периода (ювенильном, препубертатном, пубертатном и у животных, достигших взрослого возраста) во всех исследуемых областях имеют место практически идентичные изменения цитоархитектоники неокортекса: задержка нейроногенеза, уменьшение плотности распределения нейронов, пролонгированная гибель части нейронов, приводящая в результате к сокращению численности популяций разных типов нейронов в различных областях коры, снижение плотности синаптических связей во всех слоях неокортекса.

Наряду с этим обнаруживаются молодые нейроны, имеющие низкую степень дифференцировки: большое ядро и узкий ободок цитоплазмы, в которой отмечены немногочисленные каналы гладкого эндоплазматического ретикулаума и единичные рибосомы, что, вероятно, свидетельствует о задержке процессов становления синтетического аппарата в цитоплазме, также плотность свободных полисом, значительно ниже, чем в контроле. В целом эти факты могут быть представлены как морфологические признаки нарушения белоксинтезирующей функции клеток.

Митохондрии овальной формы, различаются по размерам (преобладают небольшие) и степени электронной плотности, имеют немногочисленные кристы, которые отличаются по направлению, протяженности и форме. Выявляется тенденция увеличения числа небольших по размерам электронно-плотных митохондрий с небольшим числом крист.

В нейропиле имеет место резкое снижение числа конусов роста, отростков нейронов и формирующихся синапсов, а также электронноплотные терминали, свидетельствующие о начале дегенеративных процессов.

Таким образом, наши данные свидетельствуют об изменении ряда ультраструктур нервных клеток, а, следовательно, и о реакции самих нейронов на воздействие гипоксии в период раннего неонатального периода. Выявленные структурные нарушения могут быть морфологической основой возникновения разных форм перинатальной энцефалопатии новорожденных.

## **ВЛИЯНИЕ ГРУППОВОГО СОДЕРЖАНИЯ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ, ПОВЕДЕНИЕ УХАЖИВАНИЯ И ЗВУКОПРОДУКЦИЮ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ**

Панова А. А.

ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Взаимодействие с конспецификами является важным моделирующим поведением фактором. Социальное поведение дрозофилы изучено крайне мало. Показано, что предшествующее содержание самцов в гомогенной группе приводит к подавлению агрессивного и полового поведения. Представляется важным исследовать данный вопрос для стандартизации условий содержания насекомых, а также для исследования процессов, лежащих в основе взаимодействия особей у данного модельного организма.

В работе были использованы самцы *Drosophila melanogaster* линии дикого типа Canton-S. Самцов собирали без обездвиживания в течение 5 часов после вылупления и содержали 3 суток в стандартных условиях либо поодиночке, либо в группе из 20 особей. Двигательную активность тестировали в одиночных камерах на протяжении 5 часов. Для регистрации параметров ухаживания и звукопродукции мухи были разбиты на 3 группы: те, которые были протестированы немедленно; содержащиеся 2.5 часа перед тестированием в стандартном стаканчике, но без среды; и содержащиеся 5 часов в стандартном стаканчике без среды. Тестирование самца проводили в течение 5 минут с оплодотворенной нерцептивной 5-суточной самкой той же линии. При тестировании поведения ухаживания измеряли Индекс Ухаживания (ИУ, время, занятое всеми элементами ухаживания) и Индекс Активности (ИА, время, затраченное на элементы поведения, связанные с локомоцией), а также частоту и длительность периодов ухаживания и активности. При тестировании звукопродукции (песни, исполняемой самцом при ухаживании за самкой) измеряли время, затраченное на звукопродукцию, частоту инициации и длительность песенных посылок.

Было показано, что содержание самцов дрозофилы в группе из 20 особей в течение первых 3 суток после вылупления приводит к значительному (в 2.5 раза) подавлению двигательной активности, а также к сильному (>3 раза) подавлению их половой активности и звукопродукции по сравнению с наивными самцами. Уменьшение времени, занятого ухаживанием и звукопродукцией, происходит как за счет уменьшения инициации данных действий, так и за счет снижения их длительности.

В то же время тестирование с самкой показало снижение ИА после содержания самцов в группе. Данные различия обусловлены увеличением длительности побегки на фоне меньшей частоты ее инициации по сравнению с наивными самцами. Это противоречит данным, полученным при измерении локомоторной активности при тестировании самцов поодиночке. Наблюдаемое противоречие объясняется наличием или отсутствием самки. При нахождении в камере с другой особью самцы, имеющие опыт нахождения в группе, стремятся избежать контакта с ней и убегают при ее приближении. Т.к. небольшой размер камеры и активность самки не позволяют самцу занять такое положение, которое бы исключало возможные контакты с самкой, он вынужден находиться в постоянном движении. Наблюдаемое стремление самца избежать столкновения с самкой препятствует запуску ритуала ухаживания и снижает ИУ.

Полученные результаты демонстрируют сильное влияние предшествующего социального опыта на локомоторное и половое поведение самцов дрозофилы. Основываясь на работах других авторов, нами был сделан вывод, что данная модификация поведения может являться примером оперантного обучения. Механизм обучения, вероятно, следующий: находясь в скоплениях, мухи стремятся избегать тесных контактов, сопровождающихся неприятными ударами ног и крыльев, в результате содержание в группе приводит к угнетению двигательной активности и усилению поведения покоя.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-02153.*

## **АНАЛИЗ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ КАК НОВЫЙ МЕТОД ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ ЭМОЦИОНАЛЬНО-МОТИВАЦИОННОГО СОСТОЯНИЯ ЖИВОТНЫХ**

С.С. Перцов, Е.В. Коплик, Д.С. Сахаров

ФГБУ «НИИ нормальной физиологии имени П.К.Анохина» РАМН, Москва, Россия

Феномен ультразвуковой вокализации является объектом пристального внимания исследователей. Одни из первых свидетельств, указывающих на наличие ультразвука у крыс и мышей, были приведены Н.М.Zippelius и W.M.Schleidt в 1956 г. Изначально считалось, что ультразвуковая вокализация используется млекопитающими исключительно в качестве средства коммуникации друг с другом. Представления об общебиологическом значении ультразвука были расширены в последнее десятилетие (Jourdan D. *et al.*, 2002; Sanchez C.,

2003; Wallace V.C.J., 2005; Каркищенко Н.Н. с соавт., 2011). Полагают, что ультразвуковые волны играют важную информационную роль: посредством ультразвука млекопитающие, по-видимому, обмениваются информацией о функциональных изменениях в организме при действии факторов внутренней или внешней среды. Однако информационное значение ультразвука при формировании разных мотивационно-эмоциональных состояний у животных остается мало исследованным. Практически отсутствуют работы, посвященные определению особенностей генерации ультразвуковых волн у одних и тех же особей при последовательной смене доминирующих мотиваций, вызванных ведущими биологическими или социальными потребностями и сопровождающихся формированием различных эмоций.

Целью нашей работы явилось выявление особенностей ультразвуковой вокализации крыс при формировании у них разных мотивационно-эмоциональных состояний. Опыты проведены на 20 крысах-самцах Вистар. Параметры ультразвуковой вокализации животных регистрировали в течение 3 минут с помощью прибора Sonotrack (Mertis B.V., Нидерланды).

В исходном состоянии у крыс общая длительность ультразвуковой вокализации составляла  $6311,3 \pm 1655,0$  мсек, а средняя частота –  $61,4 \pm 3,0$  кГц; максимальная мощность ультразвука соответствовала диапазону 40-50 кГц (36,0%).

Достоверных изменений параметров ультразвуковой вокализации животных после 48-ч пищевой депривации и при удовлетворении пищевой потребности не выявлено.

После 48-ч питьевой депривации у крыс обнаружено увеличение средней частоты ультразвуковых волн до  $70,0 \pm 3,8$  кГц ( $p < 0,05$ ). Мощность диапазонов ультразвуковой вокализации животных в состоянии жажды сдвигалась в сторону преобладания частот 80-90 кГц (30,7%). Изменения параметров ультразвуковой вокализации крыс, обнаруженные в этих условиях, сохранялись и после удовлетворения животными питьевой потребности.

Формирование отрицательного эмоционального состояния после 1-ч иммобилизации крыс с одновременным электрокожным раздражением сопровождалось снижением общей длительности ультразвуковой вокализации по сравнению с фоновым показателем. Данные изменения выявлены сразу и особенно через 1 ч после окончания острой стрессорной нагрузки (в 1,5 и 4,8 [ $p < 0,01$ ] раз соответственно). Крысы, подвергнутые стрессорному воздействию, характеризовались смещением мощности диапазонов вокализации в сторону преобладания частот 20-30 (22,0%), 40-50 (19,3%) и 80-90 кГц (18,8%). Через 1 ч после эмоционального стресса у животных максимальная мощность ультразвуковых волн приближалась к исходному значению и соответствовала диапазону 30-40 кГц (33,9%).

Таким образом, формирование разных мотивационно-эмоциональных состояний у животных характеризуется специфическим паттерном ультразвуковой вокализации. В характеристиках ультразвука крыс находят отражение индивидуальные эмоционально окрашенные мотивации, доминирующие в определенный момент времени. Удовлетворение ведущих биологических потребностей также сопровождается генерацией определенных ультразвуковых волн животными. Это иллюстрируют информационное значение ультразвука у млекопитающих. Следовательно, параметры ультразвуковой вокализации могут рассматриваться как один из критериев функционального состояния организма.

#### **5 $\alpha$ -ХОЛЕСТАН-3-ОН УМЕНЬШАЕТ РАЗМЕР ФУНКЦИОНАЛЬНО АКТИВНОГО ПУЛА СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ**

Петров А.М., Касимов М.Р.

Казанский государственный медицинский университет, Россия, Казань

Холестерин один из основных компонентов биологических мембран, особенно высоко его содержание в синапсах. Холестерин может окисляться как ферментативным путем, так и под воздействием активных форм кислорода, в результате образуются оксистеролы. В клетках обнаружено большое разнообразие оксистерол-связывающих белков, принимающих участие в организации мембранных контактов и внутриклеточной сигнализации. Однако об эффектах оксиформ холестерина, в том числе на синаптическую передачу, известно крайне

мало. При редком генетическом заболевании Cerebrotendinous xanthomatosis связанном с дефицитом стерол27-гидроксилазы (CYP27A1) происходит накопление 5 $\alpha$ -холестанола в тканях, особенно в мозге и наблюдаются серьезные неврологические дисфункции. 5 $\alpha$ -холестан-3-он (5X3) образуется как промежуточный продукт на пути образования холестанола из холестерина и его следы в плазме крови появляются при Cerebrotendinous xanthomatosis у людей. В крови мутантной линии мышей cyp27A-/- концентрация 5X3 оценивается примерно в 200 нМ.

В представленной работе исследовали влияние 5X3 (200 нМ) на нервно-мышечную передачу. Исследование проведено на диафрагмальных мышцах мышей. Освобождение нейромедиатора оценивалось электрофизиологическим методом (регистрация потенциалов концевой пластинки), слежение за экзо- и эндоцитозом синаптических везикул осуществлялось с помощью флуоресцентных красителей FM1-43 и FM4-64, для визуализации рафтов и жидкой мембраны использовали флуоресцентно-меченную субъединицу В холерного токсина и 22NBD-холестерин.

5X3 не влиял на спонтанную секрецию нейромедиатора, но угнетал вызванное освобождение нейромедиатора в ответ на одиночные потенциалы действия. Обработка 5X3 сильно ослабляла секрецию и экзоцитоз синаптических везикул при высокочастотной активности. При этом время рециклирования (экзо-эндоцитозного цикла) синаптических везикул не изменялось, а снижение эффективности синаптической передачи было связано с сокращением популяции везикул, участвующих в освобождении нейромедиатора. Эффект 5X3 зависел от содержания мембранного холестерина. При насыщении плазматических мембран холестерином 5X3 переставал оказывать влияние на экзоцитоз синаптических везикул. Воздействие 5X3 на синаптическую передачу может быть связано с изменением свойств мембраны. Нами было обнаружено, что 5X3 снижает стабильность рафтов в синаптическом регионе и увеличивает долю жидкой фазы мембраны, а насыщение мембран холестерином устраняет эти эффекты 5X3.

*Работа поддержана грантами РФФИ №11-04-00094-а и МК-108.2013.4.*

## **ФОНОВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ КРЫСЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ**

Поливцева Т.В., Моисеев К.Ю., Булибин А.В.

Ярославская государственная медицинская академия Россия, Ярославль

Внутриклеточное отведение от нейронов симпатических ганглиев показало, что большинству из них свойственна фоновая активность, представленная быстрыми ВПСП и спайками. Тем не менее, данные, касающиеся особенностей фоновой активности симпатических нейронов в ходе постнатального онтогенеза, являются неполными и противоречивыми. Целью исследования явилось исследование фоновой электрической активности нейронов краниального шейного ганглия исследовалась у новорожденных, 10-, 20-, 30-суточных, двух и шестимесячных крыс. Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

Во всех возрастных группах наиболее часто обнаруживались нейроны с нерегулярным характером активности и реже с импульсацией, синхронной с дыханием. У новорожденных нейроны характеризовались очень низкой частотой импульсации ( $0.04 \pm 0.01$  импульсов в секунду). В этих возрастах у нейронов наблюдались лишь единичные импульсы и отсутствовали разряды "пачечного" типа. У новорожденных животных основная масса фоновоактивных нейронов разряжалась аperiodично. У 10-суточных животных частота импульсации оставалась низкой ( $0.1 \pm 0.03$  импульсов в секунду). Большая часть фоновоактивных нейронов разряжалась аperiodично, но в этом возрасте значительно возрастал процент нейронов, имеющих дыхательную ритмику. С 20 суток жизни частота разрядов значительно возрастала. Процент нейронов, имеющих дыхательную ритмику, несколько уменьшался у 20-суточных крысят. В этом возрасте обнаруживался небольшой

процент нейронов, имеющих импульсацию, сходную с ЭКГ. У более взрослых животных характер разрядов не менялся. Наибольшая часть нейронов разряжалась аperiodично, меньшая часть – синхронно с дыханием, а наименьшая обнаруживала сердечную ритмику, тем не менее, доля нейронов с импульсацией, синхронной с ЭКГ, возрастала по сравнению с 20-суточным возрастом.

С 20 суток жизни частота разрядов значительно возрастала и равнялась, в среднем,  $1.1 \pm 0.4$  импульсов в секунду. Средняя частота импульсации к 30 суткам жизни еще больше возрастала и составила  $1.8 \pm 0.3$  импульсов в секунду. У двухмесячных и шестимесячных крыс частота достоверно не отличалась и составляла  $2.2 \pm 0.7$  и  $2.5 \pm 0.5$  импульсов в секунду ( $p > 0.05$ ).

Средняя амплитуда импульсов увеличивалась в ходе возрастного развития. Она равнялась  $102.5 \pm 10.33$  мкВ у новорожденных,  $94.6 \pm 12.15$  мкВ у 10-суточных,  $128.2 \pm 16.15$  мкВ у 20-суточных,  $171.2 \pm 20.33$  мкВ у 30-суточных,  $186.7 \pm 18.71$  мкВ у 2-месячных животных  $184.1 \pm 24.25$  мкВ у 6-месячных животных. Статистически достоверными являются различия между ранней возрастной группой (новорожденные и 10-суточные) и группой, включающей 30-суточных и более взрослых крыс ( $p < 0.05$ ).

**Выводы:** Таким образом, паттерн нейронной фоновой активности формируется в онтогенезе у крыс уже к 20 суткам жизни. Окончательное формирование амплитудно-частотных характеристик нейронной активности в краниальном шейном ганглии у крыс завершается к концу 1 месяца жизни.

## **КОМПЛЕКСНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНТЕРНЕЙРОНОВ ПОВЕРХНОСТНОЙ И ГЛУБОКОЙ ОБЛАСТЕЙ ДОРЗАЛЬНОГО РОГА СЕРОГО ВЕЩЕСТВА СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ**

Порсева В.В.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Дорзальный рог серого вещества спинного мозга (СМ) служит первым релейным центром для передачи сенсорной информации. Термо- и ноцицептивные волокна от тонких миелинизированных А $\delta$ - и немиелинизированных С-первичных афферентов оканчиваются в поверхностной области дорзального рога, включающей пластины I и II. Пластина II занимает большую часть головки дорзального рога, в которой дорзовентрально выделяют две области: внешнюю (II<sub>о</sub>) и внутреннюю (II<sub>и</sub>). Механочувствительные волокна от А $\delta$ -афферентов оканчиваются в глубокой области дорзального рога, охватывающей пластины III и IV. Интеграция интернейронов данных областей и формирование локальных сетей обеспечивает адекватное восприятие соматосенсорной и ноцицептивной афферентации. В основе выполняемых нейрональных функций лежит большое разнообразие интернейронов пластин I-IV, которые являются морфологически и функционально специфичными для каждой пластины.

Целью исследования явилось изучение топографических, морфометрических, структурных и нейрохимических характеристик интернейронов пластин I-IV дорзального рога СМ. Объектом исследования служили интернейроны четвертого поясничного сегмента СМ крыс-самок Wistar 90-дневного возраста ( $n=20$ ). Для их выявления использовали каждый пятый из серийных поперечных срезов СМ, подготовленных на криостате, толщиной 14 мкм. Использовали гистохимический метод определения активности НАДФ-диафоразы (НАДФ-д) и иммуногистохимические методы выявления белков - нейрофиламента 200 кДа (НФ) и кальбинидина 28 кДа (КАБ); нейропептидов - вещество Р (ВП) и кальцитонин-ген родственного пептида (КГРП). Гистотопографию выявляемых интернейронов соотносили с пластинами Рекседа. Анализировались клетки, срез которых прошел через ядро. Для статистического анализа использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011).



Исследование позволило выявить топографию популяций интернейронов в сером веществе СМ: во всех исследуемых пластинах присутствовали клетки, содержащие КАБ; в пластинах III-IV - НФ; в пластинах III-IV - НАДФ-д; в пластинах I-IIo - ВП- и КГРП.

Анализ средней площади сечения спинальных интернейронов показал, что независимо от их функциональной принадлежности, самыми крупными являлись интернейроны пластин III-IV, самыми мелкими - пластины II, промежуточные размеры имели интернейроны пластины I. В пределах пластин средние размеры данных популяций отличались. Так, самыми крупными размерами в пластинах III-IV обладала популяция интернейронов с НФ (более 300 мкм<sup>2</sup>), в пластине II - с НАДФ-д (более 70 мкм<sup>2</sup>), в пластине I - с КГРП (более 100 мкм<sup>2</sup>). Самые малые средние размеры имели популяции интернейронов с КАБ по сравнению с другими выявляемыми маркерами соответствующих пластин.

Подсчет интернейронов в пределах указанных пластин показал, что максимальное количество клеток выявлялось в пластине II, а минимальное число отмечалось в пластинах III-IV, что обнаруживалось для всех изучаемых популяций интернейронов. При этом, структурные характеристики их также были идентичны: в пластине I располагались клетки преимущественно вытянутой формы, в пластине II - округлой формы, ферментативную активность и флюоресценцию проявляли только их клеточные тела; в пластинах III-IV - вытянутой и треугольной формы с позитивностью клеточных тел и их отростков. Как правило, тела клеток располагались вдоль дорзовентральной оси, отростки их распространялись в дорзальном и вентральном направлениях.

Таким образом, комплекс представленных характеристик интернейронов демонстрирует принципиальные различия в организации поверхностной и глубокой областей дорзального рога СМ, связанных с особенностями первичных афферентных проекций.

## **ВКЛАД СВЕРХМЕДЛЕННЫХ КОЛЕБАНИЙ ПОТЕНЦИАЛОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В МУЛЬТИСЕНСОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПЕРЕРАБОТКИ ИНФОРМАЦИИ РАЗЛИЧНЫХ МОДАЛЬНОСТЕЙ НА УРОВНЕ ПЕРВИЧНЫХ КОРКОВЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВ СЕНСОРНЫХ СИСТЕМ**

Пугачев К.С., Филиппов И.В., Кребс А.А., Зюзин Е.В.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Сверхмедленные колебания потенциалов (СМКП) представляют собой сложноорганизованную динамику биопотенциалов головного мозга с частотами менее 0,5 Гц. В настоящее время все большую актуальность приобретает изучение нейрофизиологических процессов, связанных с СМКП, однако до сих пор остается неизученным участие различных диапазонов СМКП в мультисенсорных механизмах переработки информации у человека, что и послужило предпосылкой для проведения настоящей работы.

Цель работы – выявить и проанализировать перестройки СМКП над областями проекций первичной зрительной коры (ПЗК) при предъявлении слуховых и вкусовых стимулов; первичной слуховой коры (ПСК) при действии зрительных и вкусовых стимулов; а также лобной коры (ЛК) головного мозга человека при зрительной и слуховой стимуляции.

В исследовании приняло участие 15 добровольцев: мужчин и женщин в возрасте 24-41 год (n=30 регистраций). Регистрации проведены с использованием хлорсеребряных электродов (отведения Fp1, T3, O1), а также усилителя биопотенциалов и аналого-цифрового преобразователя. В качестве сенсорных воздействий использовали следующие стимулы: зрительные (темнота и фотостимуляция); слуховые (тишина и фоноstimуляция); вкусовые (дистиллированная вода, водный раствор глюкозы и хлорида натрия). Обработка полученных результатов включала спектральный и статистический анализ. Установлено, что на динамику секундного диапазона СМКП над областями проекций ПЗК влияли не только зрительные стимулы, но и раздражители иной модальности. Ритмическая фоноstimуляция

приводила к статистически значимому ( $p=0,0053$ ) увеличению спектральной мощности (0,1 Гц до 0,3 Гц). При действии раствора глюкозы над ПЗК наблюдалось статистически значимое увеличение спектральной мощности секундных СМКП. Сходным образом, раствор хлорида натрия приводил к статистически значимому увеличению спектральной мощности секундных СМКП (0,25 Гц – 0,5 Гц). Схожая тенденция наблюдалась и в многосекундном диапазоне при действии различных типов сенсорных стимулов. Достоверных перестроек динамики секундных СМКП при воздействии зрительных или вкусовых стимулов над проекциями ПСК обнаружено не было, однако они приводили к статистически значимому снижению спектральной мощности многосекундного диапазона. В частности, фотостимуляция приводила к статистически значимому уменьшению спектральной мощности многосекундных СМКП на уровне ПСК (0,0167 Гц – 0,07 Гц). Сходные изменения спектральной мощности многосекундных волн были выявлены при орошении полости рта раствором глюкозы и хлорида натрия по сравнению с характером этих СМКП при аппликации дистиллированной воды. Выявлено, что при фотостимуляции возникали статистически значимые перестройки секундного и многосекундного диапазонов СМКП в областях ЛК, при этом ритмическая фоностимуляция не оказывала влияния на динамику СМКП над проекциями ЛК.

Таким образом, показано, что секунднй и многосекунднй диапазоны СМКП принимают участие в мультисенсорной переработке информации в областях первичных сенсорных корковых отделов головного мозга, при этом перестройки динамики этих диапазонов имеют не только модально-специфический, но и в ряде случаев стимул-специфичный характер.

*Данное исследование проведено в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., а также при частичной поддержке грантов РФФИ (проект 14-04-00028), РГНФ и стипендии Президента РФ (СП-5052.2013.4).*

## **КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОНОВ И НЕЙРОГЛИИ В ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА (СРЕДНИЙ И ПОЖИЛОЙ ВОЗРАСТ).**

Сальков В.Н.<sup>1</sup>, Воронков Д.Н.<sup>1</sup>, Носс Н.С.<sup>2</sup>, Худоерков Р.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НЦН» РАМН, Россия, Москва

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Московский педагогический государственный университет», Россия, Москва

Активность структур головного мозга, представляющих корковый и подкорковый отделы двигательного анализатора и лимбической системы, тесно связана с функциональным состоянием дофаминовых нейронов компактной части черной субстанции (Левин, 2012; Vuot et al., 2012). С возрастом в черной субстанции число нейронов, содержащих тирозингидроксилазу (ключевой фермент синтеза дофамина), снижается, но увеличивается число нейронов, накапливающих меланин – продукт полимеризации метаболитов дофамина (McCormack et al., 2004). Показано, что меланинсодержащие нейроны черной субстанции избирательно уязвимы при нейродегенерации, характерной для болезни Паркинсона (Halliday et al., 2005). Вместе с тем, как при физиологическом старении, так и при заболеваниях, связанных с пожилым возрастом, морфометрические параметры меланинсодержащих структур черной субстанции изучены явно недостаточно (Bellinger et al., 2011).

Цель работы: исследовать соотношение и плотность расположения нейронов, содержащих и не содержащих меланин, и определить глио-нейрональный показатель в компактной части черной субстанции мозга людей среднего и пожилого возраста.

Аутопсийный материал головного мозга людей, не выявлявших при жизни нервно-психических расстройств и умерших от интеркуррентных заболеваний в возрасте от 52 до 87 лет (7 случаев), фиксировали в 10 % формалине, подвергали стандартной обработке и заключали в парафиновые блоки, которые, на уровне компактной части черной субстанции,

раскладывали на фронтальные срезы толщиной 10 мкм. Тирозингидроксилазу (маркер дофаминовых нейронов) выявляли иммуногистохимически, а структуры мозга окрашивали по Нисслю. Препараты исследовали на микроскопе «Leica DMLB», оснащенном системой компьютерного анализа видеоизображений. По наличию меланина в цитоплазме нейронов компактной части черной субстанции их делили на 4-е группы: 1-я – нейроны, не содержавшие гранул меланина, 2-я – нейроны, плотно заполненные его гранулами, 3-я – нейроны с содержанием меланина более 50%, и 4-я – менее 50%.

Для определения плотности расположения клеточных элементов в структурах черной субстанции подсчитывали нейроны с разной степенью содержания меланина и число клеток суммарной нейроглии, а затем пересчитывали их количество на площади равной 0,01 мм<sup>2</sup>. Глиальный индекс рассчитывали как отношение числа клеток нейроглии к числу нейронов.

Обнаружили, что в компактной части черной субстанции мозга человека у лиц среднего и пожилого возраста плотность расположения нейронов, содержащих меланин, была наибольшей во 2-ой и 3-ей группах –  $4,01 \pm 0,13$  (34%) и  $3,9 \pm 0,11$  (33%) в 0,01 мм<sup>2</sup>, соответственно. В 4-ой группе нейроны располагались менее плотно –  $3,17 \pm 0,1$  (27%), и наименьшая плотность их расположения была в 1-ой группе –  $0,78 \pm 0,06$  (6%). Суммарная плотность расположения нейронов в компактной части черной субстанции без деления их на группы составила  $11,85 \pm 0,18$ , плотность суммарной нейроглии –  $32,8 \pm 0,48$ , а глио-нейрональный индекс был равен 2,93.

Морфометрия дофаминергических структур компактной части черной субстанции выявила высокую плотность нейронов, накапливающих продукт метаболизма дофамина – нейромеланин, что свидетельствует о значительной функциональной активности этих нейронов у неврологически здоровых лиц среднего и пожилого возраста. Наряду с этим, учитывая роль внеклеточного меланина в активации микроглии и последующем развитии нейродегенерации (Wei et al., 2011), и роль внутриклеточного меланина в защите нейронов от повреждения (Zucca et al., 2014), можно предположить, что высокая плотность меланинсодержащих нейронов в черной субстанции у неврологически здоровых лиц старших возрастных групп является одним из показателей нейропротекции.

## **ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕТАБОЛИЗМА В КОРКОВО-ПОДКОРКОВЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Сергутина А.В., Рахманова В.И.

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Россия, Москва

В работе провели анализ некоторых цитохимических показателей метаболизма в структурах мозга, ответственных за формирование и реализацию целенаправленного поведения у крыс Вистар с высокой и низкой двигательной активностью. С этой целью в отдельных структурах мозга крыс количественными цитохимическими методами оценивали активность ферментов: моноаминоксидазы на субстрате триптамин (МАО), и ацетилхолинэстеразы (АХЭ) - нейромедиаторный обмен, аминопептидазы (АМП) - обмен белков, глутаматдегидрогеназы (ГДГ) – обмен глутаминовой кислоты, участвующей в метаболизме белков, нейромедиаторов и окислительном обмене. Цитохимические показатели (активность указанных ферментов) исследовали в сенсомоторной коре (слои III и V), стриатуме (хвостатое ядро и прилежащее ядро) и гиппокампе (поле СА 3). Исследовали две серии крыс Вистар, каждая из которых включала по n=6 животных с высокой (число пересечений квадратов  $159,4 \pm 1,2$ ) и низкой ( $67,3 \pm 1,2$ ) двигательной активностью в «открытом поле». Статистику проводили, используя однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA).

Было установлено, что в двух сериях животных активность АМП значимо преобладала у крыс с низкой двигательной активностью по сравнению с крысами, обладающими высокой двигательной активностью. Однако, в зависимости от серии животных наблюдались различия

в активности фермента между исследованными структурами мозга. Так, например, в 1-ой серии у крыс с низкой двигательной активностью АМП преобладала в слое V сенсомоторной коры и хвостом ядре по сравнению со слоем III (где активность АМП была принята за 100%), а в прилежащем ядре и гиппокампе она была такой же как и в слое III. У крыс с высокой двигательной активностью этой серии активность АМП в слое V коры также преобладала по сравнению со слоем III коры, в хвостом ядре и прилежащем ядре она была сходной с уровнем АМП в слое III, а в гиппокампе значительно ниже. Во 2-ой серии у крыс как с низкой, так и высокой двигательной активностью АМП преобладала в слое V сенсомоторной коры, хвостом ядре, прилежащем ядре, но у крыс высокой двигательной активностью она была сходной в слое III коры и гиппокампе, а у крыс с низкой двигательной активностью она была значимо ниже в гиппокампе по сравнению со слоем III сенсомоторной коры. Активность ГДГ имела более дифференцированные особенности как между сериями животных, так и между структурами мозга в каждой серии, что требует более длительного описания. В данной публикации отметим только, что различия между крысами с высокой и низкой двигательной активностью в обеих сериях отсутствовали в слое III коры, тогда как в гиппокампе уровень ГДГ был значимо ниже у крыс с низкой двигательной активностью. Различия в уровне ГДГ в слое V сенсомоторной коры, хвостом ядра и прилежащем ядре в целом характеризовались как преобладание активности фермента у крыс низкой двигательной активностью по сравнению с крысами, обладающими высокой двигательной активностью, но имели свои особенности от серии к серии. Активность MAO в обеих сериях в слое III коры не отличалась, а в прилежащем ядре была ниже у крыс с низкой двигательной активностью по сравнению с животными с высокой двигательной активностью. Отличия других исследованных структур мозга имели свои особенности MAO как между сериями так и в каждой из исследованных серий у крыс с высокой и низкой двигательной активностью. Активность АХЭ у крыс низкой двигательной активностью в 1-ой серии была ниже в хвостом ядре, а во 2-ой серии ниже в прилежащем ядре по сравнению с крысами с высокой двигательной активностью. Активность АХЭ в обеих сериях в слое V коры, хвостом ядре, прилежащем ядре и гиппокампе была выше по сравнению с ее уровнем в слое III коры.

Таким образом, морфохимический профиль мозга животных, от которого зависят их адаптационные возможности, определяется как генетическими, так и внешними факторами.

## **РОЛЬ 5-НТЗ РЕЦЕПТОРОВ В МЕХАНИЗМАХ МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ТРИГЕМИНО-ТАЛАМО-КОРТИКАЛЬНОГО ПУТИ**

Соколов А.Ю.<sup>1,2</sup>, Любашина О.А.<sup>1,2</sup>, Сиваченко И.Б.<sup>1</sup>, Пантелеев С.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН; <sup>2</sup>Институт фармакологии им. А.В. Валдьмана Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Спинальное ядро тройничного нерва (STN) является важнейшим сегментарным образованием, обеспечивающим сбор, обработку и передачу ноцицептивных сигналов от вне- и внутричерепных тканей к вышележащим структурам ЦНС. Аксоны клеток STN проецируются в вентральное задне-медиальное ядро (VPM) таламуса, которое в свою очередь служит главным супраспинальным акцептором афферентного трафика от кранио-фациального региона и содержит нейроны третьего порядка в цепи проведения чувствительной информации от экстра- и интракраниальных ноцицепторов к коре. Обе структуры играют ключевую роль в нейробиологии головных болей, в частности, мигрени и нередко рассматриваются как возможные нейроанатомические мишени действия различных антицефалгических препаратов.

Известно, что в зависимости от класса лигандируемых рецепторов, серотонин (5-НТ) может оказывать разнонаправленное влияние на активность нейронов STN и VPM, что объясняет широкое использование серотонинергических препаратов для лечения мигрени. Однако имеющихся в настоящее время данных об участии 5-НТЗ рецепторов в механизмах

болевой трансмиссии по тригемино-таламо-кортикальному пути недостаточно, что не позволяет теоретически обосновать целесообразность применения модуляторов этого класса 5-НТ рецепторов в терапии головных болей. Между тем результаты небольшого числа клинических наблюдений свидетельствуют о возможном антимигренозном потенциале 5-НТ3-антагонистов, в частности гранисетрона. Поэтому целью нашей работы явилось экспериментальное изучение эффектов гранисетрона на нейрофизиологической модели тригемино-дуроваскулярной ноцицепции, позволяющей имитировать на животных патофизиологические процессы, релятивные мигрени.

В отдельных сериях острых опытов на наркотизированных (уретан 0,8 г/кг и  $\alpha$ -хлоралоза 0,06 г/кг, в/б) и курарезированных (пипекуроний 1,2 мг/кг, в/в) крысах с помощью внеклеточных микроэлектродов была зарегистрирована фоновая спайковая активность конвергентных нейронов STN и VPM, отвечающих как на электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки (ТМО), так и на тактильное раздражение кожных рецептивных полей лицевой поверхности морды. Влияние гранисетрона в разных дозах (2, 4 и 6 мг/кг; в/в; n=6 для каждой дозы) оценивали путем сравнения частоты спонтанных разрядов клеток STN и VPM и интенсивности их ответов на электрораздражение ТМО до и через каждые 5-15 мин после инфузии препарата. В контрольных экспериментах (n=6) животные получали эквивалентный объем физраствора. Статистический анализ данных производили с применением непараметрических тестов.

В результате проведенных экспериментов было показано, что в/в ведение гранисетрона во всем диапазоне исследуемых доз не оказывает существенного влияния ни на показатели фоновой активности нейронов STN и VPM, ни на их реакции на электростимуляцию ТМО. Полученные нами данные свидетельствуют о минорной роли 5-НТ3 рецепторов в модуляции тригемино-васкулярной ноцицепции и ставят под сомнение целесообразность применения 5-НТ3-блокаторов для лечения мигрени. Впрочем, для окончательного подтверждения этих выводов необходимо проведение дополнительной серии экспериментов по изучению эффектов гранисетрона и других 5-НТ3-литиков на модели тригемино-дуроваскулярной ноцицепции, но уже в условиях сенситизации нейронов тригемино-таламического пути, что позволит повысить её предикционную валидность.

## **ОДНОВРЕМЕННЫЙ БИДИРЕКЦИОНАЛЬНЫЙ ТОК АКСОПЛАЗМЫ В НЕРВНЫХ ВОЛОКНАХ**

Сотников О.С., Васягина Н.Ю.

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

До сих пор представления о возможности одновременного перемещения аксоплазмы в двух противоположных направлениях не удается объяснить с физической точки зрения. В экспериментах на изолированных нейронах моллюсков с сохранением нервного отростка удается выявить такое свойство аксона как эластичность. Меняя точки адгезии препарата, удается показать, что он ведет себя, как мышечное волокно, то есть все части волокна, сокращаясь, всегда перемещаются навстречу друг другу. Меняя число точек адгезии легко получить движение частиц аксоплазмы в противоположные стороны. В докладе демонстрируется передвижение сомы нейрона и отростка в разные стороны в зависимости от изменения точек опоры препарата или точек его адгезии. Аксоплазма не течет, а перемещается как полужидкая субстанция и может полностью впячиваться в тело клетки. Выявлена изометрическая форма сокращения аксона. Все имеющиеся биомолекулярные данные о функциях макромолекул цитоскелета аксоплазмы не противоречат предлагаемой ретрактивной теории одновременного бидирекционного "тока" аксоплазмы.

## НЕЙРОНЫ С КАЛЬБИДИНОМ В ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И ПАРАВЕРТЕБРАЛЬНЫХ УЗЛАХ ВЗРОСЛОЙ КРЫСЫ

Стрелков А.А.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Кальбиндин является внутриклеточным кальций-связывающим белком, который участвует в транс-клеточном транспорте ионов кальция и модулирует эффекты, возникающие в ответ на изменения внутриклеточной концентрации кальция, обеспечивая кальциевый гомеостаз. Дисфункция кальциевой буферной системы в нейронах может приводить к их дегенерации, что связывают с долговременным повышением концентрации ионов кальция в цитоплазме клетки. Таким образом, кальбиндин, присутствуя в различных типах нервных клеток, оказывает нейропротекторное действие. Целью настоящей работы явилось изучение нейронов, содержащих белок кальбиндин с мол. массой 28 кДа в чувствительном узле спинномозгового нерва и в околопозвоночном симпатическом узле.

Исследование проведено на самках крыс Wistar 90 дневного возраста ( $n=4$ ). Объектом исследования служили нейроны чувствительного узла второго грудного спинномозгового нерва (ЧУГН) и шейно-грудного узла симпатического ствола (ШГУ). Выявление нервных клеток, иммунореактивных (ИР) к белку кальбиндину (КАБ), проводили иммуногистохимическим методом с использованием меченых антител к КАБ. Определяли долю КАБ ИР нейронов в узлах и измеряли их площадь сечения, по которой группировали в размерные классы: до 200 мкм<sup>2</sup> (очень малые), 201-400 мкм<sup>2</sup> (малые), 401-600 мкм<sup>2</sup> (средние), 601-800 мкм<sup>2</sup> (крупные), более 801 мкм<sup>2</sup> (очень крупные). Анализу подлежали нервные клетки, срез которых прошел через ядро с видимым ядрышком. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011).

В ЧУГН и ШГУ выявлялись КАБ ИР нейроны и нервные волокна, глиальные клетки были иммунонегативными. На всем срезе узла КАБ ИР нейроны располагались как одиночно, так и образовывали кластеры от 2 до 8 клеток различных размеров. КАБ распределялся в цитоплазме диффузно, в части клеток определялся в ядрах. По распределению продукта реакции, всю популяцию КАБ ИР нейронов как в ЧУГН, так и в ШГУ, можно разделить на три субпопуляции: одну - представленную нейронами малых размеров с более интенсивной флюоресценцией в ядре по сравнению с цитоплазмой; вторую - нейронами крупных размеров с более интенсивной флюоресценцией в цитоплазме по сравнению с ядром; третью - нейронами различных размеров с одинаково слабой флюоресценцией в ядре и в цитоплазме. Подсчет показал, что КАБ содержали 26% нейронов в ЧУГН и 34% нейронов в ШГУ. Средняя площадь сечения КАБ ИР нейронов в ЧУГН составила  $439,2 \pm 26,85$  мкм<sup>2</sup>. В ШГУ средние размеры ИР нейронов были больше, чем в ЧУГН на 25% и равнялись  $549,9 \pm 19,07$  мкм<sup>2</sup>. В обоих узлах КАБ ИР нейроны были представлены клетками всех размерных классов: от очень малых до очень крупных. Так, в ЧУГН 45,5% клеток составляли нейроны малых, 28,3% - средних размеров. Остальные в равных количествах отнесены к ИР клеткам очень малых (9,7%), крупных (8,5%) и очень крупных (8,0%) размеров. В ШГУ 32,3% и 32,2% приходилось соответственно на КАБ ИР нейроны средних и крупных размеров, 24,3% - малых размеров, 9,5% - очень крупных размеров. Минимальное количество ИР клеток в ШГУ составила группа очень малых размеров (1,7%).

В результате исследования обнаружено, что нейроны ИР к КАБ содержатся в узлах периферической нервной системы у взрослых крыс, а на долю их популяций приходится треть от всех нейронов узла (около 30%), как чувствительного, так и симпатического.

Большие средние размеры симпатических постганглионарных нейронов с КАБ детерминированы значительным увеличением в популяции доли нейронов крупных размеров - в 4 раза, и уменьшением доли КАБ ИР нейронов как очень малых, так и малых размеров - в 6 и в 2 раза соответственно, по отношению к таковым группам чувствительных нейронов.

## **ВОЗОБНОВЛЯЮЩАЯСЯ ИНСУЛИНОВАЯ ГИПОГЛИКЕМИЯ ПРИВОДИТ К АКТИВАЦИИ ЦИКЛА ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ В МОЗГЕ**

Телушкин П.К., Потапов П.П., Медведева Н.Б.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Возобновляющаяся инсулиновая гипогликемия является частым осложнением терапии сахарного диабета и приводит к развитию постгипогликемической энцефалопатии, механизмы которой требуют изучения. Гипогликемия сопровождается увеличением уровня аспартата в мозге, способного оказывать эксайтотоксические эффекты. Одним из путей катаболизма аспартата является цикл пуриновых нуклеотидов (Borza et al., 2003), включающий дезаминирование аденозинмонофосфата. Аденозинмонофосфатдезаминаза (АМФ-Д) катализирует реакцию цикла, приводящую к образованию из АМФ свободного аммиака и инозитолмонофосфата.

Эксперименты выполнены на белых крысах-самцах массой 200-230 г. Гипогликемическую кому (уровень глюкозы в крови 1.0-1.5 мМ/л) вызывали введением инсулина в дозе 40 ЕД/кг массы, купирование комы проводили введением 3.0 мл 40% раствора глюкозы в желудок. Обследовали крыс, находящихся в состоянии гипогликемической комы, через 48 часов после купирования первой комы глюкозой и животных, перенесших серию из 7 гипогликемических ком с интервалом 2 дня на вторые сутки после купирования последней комы. Контролем служили интактные животные. В больших полушариях мозга определяли уровень аспартата и активность аденозинмонофосфатдезаминазы (КФ 3.5.4.6), 5/-нуклеотидазы (КФ 3.1.3.5) аспартаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1), аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2) и глутаматдегидрогеназы (КФ 1.4.1.3).

В состоянии первой гипогликемической комы у экспериментальных животных выявлено увеличение уровня аспартата на 30% и активности АМФ-Д на 20% (в обоих случаях  $P < 0.01$ ). Через 48 часов после купирования первой гипогликемической комы изменений содержания аспартата и активности АМФ-Д не наблюдается. Через 48 часов после купирования последней комы из серии гипогликемических ком активность АМФ-Д в мозге оказалась увеличена на 30% , а содержание аспартата снижено на 10% (в обоих случаях  $P < 0.01$ ). Изменений активности других исследованных ферментов во все сроки эксперимента не выявлено.

Увеличение активности АМФ-Д и уменьшение уровня аспартата в мозге крыс, перенесших серию гипогликемических ком, свидетельствуют об увеличении скорости непрямого дезаминирования аспартата в реакциях пуринового цикла, и может рассматриваться как “адаптация” метаболизма, которая целесообразна в отношении защиты нейронов от эксайтотоксического действия аспартата.

Вместе с тем, активация пуринового цикла имеет явно неблагоприятные последствия, поскольку: 1. неизбежно приводит к образованию свободного аммиака; 2. катализируемая ферментом реакция является лимитирующим этапом катаболизма адениловых нуклеотидов и увеличение активности АМФ-Д способно приводить к уменьшению общего пула адениловых нуклеотидов, снижению энергообеспечения и нарушению межклеточных коммуникаций, обеспечиваемых нуклеотидами; 3. образование из инозитолмонофосфата и последующее окисление гипоксантина и ксантина в ксантинооксидазной реакции сопровождается продукцией супероксиданионрадикала и активацией процессов перекисного окисления. Перечисленные факторы, наряду с эксайтотоксическим действием аспартата, могут иметь существенное значение в механизмах повреждения нейронов при возобновляющейся гипогликемии.

## ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПРИ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ

Фатеев М.М., Телушкин П.К., Гушин А.С., Варенцов В.Е.

Ярославская государственная медицинская академия

Опыты проведены на бодрствующих крысах-самцах с развившимся аллоксановым диабетом в условиях иммобилизационного стресса. Регистрация ЭКГ осуществлялась во II стандартном отведении в течение 4-х минут до и через 15, 60, 90 и 120 минут (кома) после введения инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 минут после введения глюкозы (3 мл 40 % раствора внутривенно) крысам, находящимся в состоянии гипогликемической комы. Определяли показатели временного, геометрического и спектрального анализов variability сердечного ритма (VSR).

Частота сердечных сокращений (ЧСС) у крыс с диабетом составила  $446 \pm 15$  уд/мин, после введения инсулина она начинает уменьшаться, и максимальное снижение наблюдается у коматозных животных ( $288 \pm 23.5$  уд/мин,  $p < 0.001$ ). После введения глюкозы ЧСС постепенно восстанавливается, и через 1 час составляет  $367 \pm 19.8$  уд/мин, оставаясь еще значительно ниже исходного уровня ( $p < 0.01$ ). Другие показатели VSR также постепенно изменяются уже через 15 минут после введения инсулина и достигают максимальных отклонений от исходного уровня у животных в состоянии комы. Достоверно увеличились: среднее квадратичное отклонение (SDNN), вариационный размах (MxDMn), мода (Mo), площадь скаттерограммы (EllSq), мощность волн низкой частоты (LF) и общая мощность спектра (TP) соответственно в 2.5, 2.3, 1.6, 6.6, 15.6 и 10.5 раз.

Через 15 минут после введения глюкозы происходит постепенное восстановление показателей VSR. Однако к концу 1-го часа после купирования комы глюкозой мода (Mo), амплитуда моды (AMo), соотношение длины к ширине скаттерограммы (EllAs) остаются увеличенными соответственно в 1.2, 1.7, 1.3 раза ( $p < 0.05$ ). Напротив, в это время исследования наблюдается снижение таких показателей как SDNN, коэффициент вариации (CV), MxDMn, LF и TP соответственно в 2.1, 2.6, 1.6, 3.7 и 4.3 раза ( $p < 0.05$ ). По сравнению с состоянием комы через 1 час после введения глюкозы у крыс происходит увеличение ЧСС в 1.3 раза и AMo в 2.2. раза ( $p < 0.05$ ), и снижаются SDNN, CV, квадратный корень суммы разностей последовательных R-R интервалов (RMSSD), MxDMn, Mo, EllSq, LF, HF, TP, индекс вагосимпатического взаимодействия (LF/HF) соответственно в 5.1, 3.5, 4.8, 3.6, 1.3, 30.5, 57.7, 26.6, 44.9 и 2.7 раза ( $p < 0.05$ ).

Таким образом, у крыс с сахарным диабетом в состоянии гипогликемической комы и иммобилизационного стресса изменения в показателях временного и геометрического анализов VSR свидетельствуют о резком уменьшении активности симпатoadrenalовой системы и возрастании тонуса парасимпатического отдела автономной нервной системы (АНС). Однако данные спектрального анализа указывают не только на увеличение тонуса парасимпатического отдела АНС, но еще более на увеличение тонуса ее симпатического отдела (LF), т.е. на увеличение общей активности АНС. Возможно, при стрессе в показателе LF отражается активность и высших отделов АНС: гипоталамического и коркового, что наблюдалось нами ранее при исследовании VSR у стрессированных крыс при воздействии на их организм  $\beta$ -адреноблокаторов и ингибиторов АПФ.

Купирование комы даже через 1 час после введения глюкозы не приводит к нормализации сердечного ритма. Многие показатели VSR, такие как ЧСС, SDNN, CV, MxDMn, Mo, AMo, EllAs, LF, TP не возвращаются к исходным значениям; их изменения указывают на постепенное возрастание активности симпатoadrenalовой системы и уменьшение тонуса парасимпатического отдела АНС. Об этом свидетельствует и сравнительный анализ показателей VSR у крыс в состоянии комы и через 1 час после купирования ее глюкозой. Однако и в этом случае изменения в показателях спектрального



анализа не совпадают с изменениями в показателях временного и геометрического анализа, что требует дальнейших исследований.

## **ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ СВЕРХМЕДЛЕННОЙ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕОКОРТЕКСА**

Филиппов И.В., Кребс А.А., Пугачев К.С., Зюзин Е.В.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

Несмотря на возрастающий в последние годы интерес к сверхмедленной биоэлектрической активности головного мозга (с частотами менее 0,5 Гц), до настоящего времени неизученным остается вопрос о происхождении этого феномена и вероятных электрофизиологических коррелятах, формирующих нейрофизиологический базис сверхмедленной активности ЦНС, что и послужило объективными предпосылками и стимулом для выполнения настоящей работы.

Цель исследования – выявить, проанализировать и сопоставить спонтанные сверхмедленные колебания потенциалов неокортекса (СМКП) головного мозга крыс в диапазоне частот 0,001-0,5 Гц со спонтанными медленными флюктуациями импульсной активности нейронов (ИАН) лобной коры и динамикой медленных изменений свойств ритмов электрокортикограммы (ЭКоГ) этого отдела ЦНС с частотами от 0,5 Гц до 70 Гц.

Работа проведена с соблюдением биоэтических правил на 5 самцах взрослых крыс-альбиносов ( $n=5$  экспериментов), под уретановой анестезией (1,2 г/кг, интраперитонеально) в условиях острого эксперимента. Многоканальная регистрация спонтанных СМКП, медленных флюктуаций ИАН и свойств ритмов ЭКоГ во фронтальном неокортексе у животных осуществлялась в специальной экранированной электрофизиологической камере в условиях максимальной изоляции крыс от действия сенсорных стимулов (зрительных, слуховых, тактильных и пр.). Для регистрации указанных форм биоэлектрической активности ЦНС использовали универсальную нейрофизиологическую компьютерную электрофизиологическую станцию AlphaOmega AlphaLab SnR (Израиль). Полученный станцией файл при помощи программного обеспечения (SciWorks Experimenter Analysis 8, США) разделялся на три диапазона частот: 0,001 Гц – 0,5 Гц (СМКП), 0,5 Гц – 70 Гц (ЭКоГ) и 1 Гц – 8 кГц (ИАН). Сигнал, содержащий ЭКоГ использовался для получения медленных временных периодограмм флюктуаций свойств ритмов ЭЭГ, а сигнал, содержащий ИАН, был использован для получения медленных периодограмм флюктуаций частоты разрядов нейронов. Осуществлен корреляционный анализ динамики и спектральных свойств различных диапазонов СМКП с полученными медленными периодограммами флюктуаций свойств ритмов ЭКоГ и ИАН фронтального неокортекса (с периодами от секунд до минут). По окончании экспериментов животные забивались (введение уретана в дозировке 3 г/кг, интраперитонеально) для осуществления морфологической верификации наличия трексов электродов в области фронтального неокортекса.

В докладе обсуждаются полученные данные, указывающие на присутствие во фронтальном неокортексе сложноорганизованной динамики СМКП: секундных волн с частотами 0,1-0,3 Гц, многосекундных колебаний с частотами 0,0167-0,035 Гц и минутных флюктуаций потенциалов с частотами менее 0,003 Гц. Также в докладе анализируются полученные результаты, указывающие на существование положительной корреляции между динамикой секундных СМКП и медленных флюктуаций ИАН, тогда как в основе многосекундных волн лежат, по-видимому, преимущественно медленные изменения свойств ритмов ЭКоГ.

*Данное исследование проведено в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы и при поддержке гранта РФФИ (проект 14-04-00028).*

## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В НЕЙРОЦИТАХ ИНТРАМУРАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ ПРЯМОЙ КИШКИ ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ ДЕСИМПАТИЗАЦИИ

Фоканова О.А., Румянцева Т.А.

ГБОУ ВПО ЯГМА Минздрава России. Россия, Ярославль

Гистохимические особенности нейроцитов межмышечного сплетения интрамуральных ганглиев прямой кишки изучены у самок интактных и экспериментальных крыс линии Вистар в возрасте от 3 до 180 суток. Для создания модели химической десимпатизации на развивающемся организме использовалась следующая схема ведения гуанетидина: новорожденным крысятам с третьих по 29 сутки ежедневно внутрибрюшинно вводили 0,3 мл водной взвеси гуанетидина, приготовленной на электромагнитной мешалке, из расчета 60-70 мг/кг. Активность моноаминоксидазы (МАО) (по методу Гленнера) оценивали с помощью видеоанализатора. Полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики.

Выявлено, что в контрольной группе активность МАО в всех возрастных группах определялась в области ганглиев и в межузловых волокнах, но ввиду диффузного распределения ферментативной активности, подсчитать количество МАО-положительных нейроцитов в ганглиях не удалось. Поэтому измерялись параметры активности МАО в области ганглиев межмышечного сплетения. Средние показатели активности МАО в интрамуральных ганглиях ПК в течение первых 6 месяцев жизни крысы изменялись в пределах от 25,5 до 112 опт.ед. Фермент начинает выявляться на 10 сутки жизни крысы, средняя активность в ганглиях равна  $52,2 \pm 0,32$  опт.ед. В период с 10 до 21 суток происходит достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение активности до  $40,5 \pm 0,60$  опт.ед. Далее на 30 сутки жизни крысы активность повышается до максимальных значений  $59,8 \pm 1,6$  опт.ед. ( $p < 0,05$ ). В период с 30 до 90 суток показатель активности фермента понижался до  $35,3 \pm 0,58$  опт.ед. и затем, на 120 сутки увеличивался до  $41,2 \pm 1,25$  опт.ед., а в последствии достоверно не изменялся в течение всего периода наблюдения.

Конечный продукт реакции на МАО при десимпатизации, также как у интактных животных, распределялся диффузно в области ганглиев и в межузловых волокнах. В некоторых нейроцитах отмечается сгущение конечного продукта на одном из полюсов клетки. Активность МАО в нейроцитах интрамуральных ганглиев прямой кишки у десимпатизированных крыс на 14 сутки составляет  $60,2 \pm 1,23$  опт.ед., что превышает контроль в 1,2 раза. На 21 сутки показатель достоверно снижался до  $39,1 \pm 0,42$  опт.ед. до контрольного уровня ( $40,5 \pm 0,60$  опт.ед.). На 30 сутки активность МАО достоверно не изменяется по сравнению с показателем у животных предыдущего возраста, но резко, в 1,7 раза, возрастают различия с контролем.

Начиная с 30 и до 180 суток, активность МАО постепенно увеличивается. В ювенильном возрасте у 60, 90 и 120-суточных крыс различия составляют 7%, 19%, и 18%. В молодом возрасте различия с контролем еще более возрастают, достигая 34% у 150-суточных и 39% у 180-суточных крыс ( $63,6 \pm 1,91$  опт.ед., в контроле  $39,0 \pm 0,50$  опт.ед., различия достоверны  $p < 0,01$ ).

На фоне введения гуанетидина отмечается временное усиление активности МАО, что связано с механизмом действия нейротоксина, который стимулирует синтез и выделение катехоламинов, доводя клетку до истощения и гибели. После окончания инъекций гуанетидина сохранившиеся клетки активизируются, что проявляется увеличением уровня МАО.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что гуанетидин вызывает изменения уровня МАО в интрамуральных ганглиях прямой кишки во время введения, и эффект его сохраняется и нарастает через 3-5 месяца после окончания инъекций, достигая максимума. Только в конце наблюдения на 180 сутки появляются признаки компенсации.

## **ЭФФЕКТ БЛОКАДЫ $\alpha_{2A/D}$ -АДРЕНорецепторов НА Сердечную Деятельность 20-ти и 1-но недельных Крыс.**

Хисамиева Л.И., Зефилов Т.Л., Зиятдинова Н.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань.

Согласно классическим представлениям в основе экстракардиальных регуляторных влияний на сердечную деятельность лежат симпато-парасимпатические взаимодействия отделов вегетативной нервной системы. Если к моменту рождения у крыс компоненты парасимпатической регуляции сердца являются сформированными, то формирование симпатических компонентов завершается лишь после окончания молочного периода развития крыс. В то же время катехоловые амины (КА) способны регулировать сердечную деятельность крысят и до формирования полноценной адренергической регуляции сердца.

Считается, что КА взаимодействуют в сердце с  $\beta$ -адренорецепторами, активируя сердечную деятельность. Поэтому огромное количество исследований посвящено изучению роли агонистов и антагонистов  $\beta$ -адренорецепторов ( $\beta$ -АР) в регуляции работы сердца. Значительно меньшее количество исследований посвящено изучению роли  $\alpha$ -АР, которые так же присутствуют в клетках сердца. Причем большинство из этих работ посвящено изучению  $\alpha_1$ -АР. Возрастные особенности влияния блокады  $\alpha_1$ -АР на работу сердца изучались и в нашей лаборатории на протяжении многих лет (Зефилов Т.Л. и др., 2011). В то же время практически отсутствуют работы по изучению влияния  $\alpha_2$ -АР на работу сердца. Изучение возрастных особенностей участия  $\alpha_2$ -АР вообще не осуществлялось.

В то же время  $\alpha_2$ -адренорецепторы ( $\alpha_2$ -АР) участвуют в регуляции различных физиологических функций, в том числе сердечно-сосудистой системы.  $\alpha_2$ -адренорецепторы найдены в центральной и периферической нервной системе, также на тромбоцитах, меланоцитах, периферических норадренергических и холинергических аксонах, сосудистых и других гладкомышечных клетках, в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы, в жировых клетках, в желудочно-кишечном тракте, печени, почки, глазах и селезенки. На сегодняшний день известно девять подтипов адренергических рецепторов:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{1D}$ ,  $\alpha_{2A/D}$ ,  $\alpha_{2b}$ ,  $\alpha_{2C}$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  и  $\beta_3$ .

Целью данного исследования было изучение возрастных особенностей блокады  $\alpha_{2A/D}$ -адренорецепторов на хронотропию сердца 20-ти и 1-но недельных крыс. Работа выполнена на белых беспородных крысах 1-но и 20 недельного возраста. Наркотизированной крысе (уретан, 800 мг/кг на массу животного) антагонист  $\alpha_{2A/D}$ -АР RX-821002 (Tocris) в дозе 0,1 мг/кг вводили в правую бедренную вену. В ходе эксперимента непрерывно регистрировали ЭКГ.

Специфический антагонист  $\alpha_{2A/D}$ -адренорецепторов RX-821002, у 20 недельных крыс, вызывал отрицательный хронотропный эффект в течение 10 минут, за которым следовал положительный хронотропный эффект. У крыс 1 недельного возраста внутривенное введение препарата приводило к учащению сердечной деятельности в течение 60 минут. Данные возрастные особенности влияния блокады  $\alpha_{2A/D}$ -АР могут быть связаны, на наш взгляд, с различной экспрессией пост- и пресинаптических рецепторных белков в различные этапы постнатального онтогенеза, а также с особенностью влияния этих рецепторов при локализации на пресинаптической и постсинаптической мембране.

## **АФФЕРЕНТНАЯ И ЭФФЕРЕНТНАЯ ИННЕРВАЦИЯ СЕРДЦА**

Хмельцова О.И., Емануйлов А.И.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

У крыс и кошек основными источниками иннервации сердца являются ветви блуждающего нерва и каудального сердечного нерва. У кошек по сравнению с крысами отмечается большее разнообразие анатомических вариантов звездчатого узла, являющегося основным источником симпатической иннервации сердца. У всех животных при введении

флуоресцентного маркера в стенку миокарда желудочков меченые нейроны обнаруживались в симпатических узлах: краниальном шейном узле, среднем шейном, звездчатом и паравerteбральных узлах с T3 по T6. Наибольшее количество меченых нейронов у всех животных обнаруживалось в звездчатом ганглии. Тем не менее, количество нейронов различалось в зависимости от возраста. Число нейронов, иннервирующих сердце, в звездчатом узле увеличивалось с момента рождения до определенного возраста, а затем снижалось вплоть до 30 суток жизни у крыс и 60 суток кошек, и далее не менялось. У крыс максимальное количество меченых клеток в симпатических ганглиях приходилось на 10, у кошек – на 20 сутки жизни. Тем не менее, у новорожденных в симпатических узлах отмечается лишь небольшой (до 3-4%) процент клеток, содержащих маркер пролиферации Ki67. Доля клеток, дающая положительную реакцию на маркер апоптоза каспазу 3, также очень небольшая (до 1%). Таким образом, число нейронов в самих симпатических узлах не меняется, а происходит реорганизация связей.

В афферентных ганглиях меченые нейроны выявлялись в каудальном узле блуждающего нерва и спинномозговых узлах. У новорожденных котят меченые нейроны выявлялись в узлах с C7 по T6, в 10-суточном возрасте – с C4 по T11, в 20-суточном – с C5 по T10, в 30-суточном и у более взрослых – с C8 по T7. У крыс меченые афферентные нейроны выявлялись в тех же сегментах, за исключением 10- и 20-суточного возраста, где обнаруживались нейроны в узлах C6-T10 и C7-T9 соответственно.

Наибольшее количество сердечных нейронов в звездчатых узлах всех возрастных групп у крыс и кошек являлись норадренергическими и содержали фермент синтеза норадреналина тирозингидроксилазу (ТГ). Процентное содержание таких нейронов в раннем постнатальном онтогенезе практически не менялось. Большая часть ТГ-позитивных нейронов во всех исследованных узлах у всех животных являлась также нейропептид Y-позитивной. Часть нейропептид Y-иммунопозитивных нейронов в звездчатом узле содержала кальбиндин. Доля нейронов, содержащих ТГ и нейропептид Y, непрерывно возрастала с момента рождения до конца 2-го месяца жизни в краниальном шейном и звездчатом узле.

В афферентных спинномозговых узлах и каудальном узле блуждающего нерва сердечные нейроны содержат вещество P и кальцитонин-ген-родственный пептид (КГРП). В каудальном узле блуждающего нерва у крыс и кошек уже с момента рождения подавляющее большинство нейронов содержало вещество P, в то время как в спинномозговых узлах процент был значительно меньше, но возрастал у обоих видов животных в первые 10 суток жизни.

Таким образом, анатомические связи афферентных и эфферентных нейронов с органами-мишенями (сердце и сосуды) сформированы к моменту рождения. Основной набор нейротрансмиттеров и ферментов их синтеза присутствует в телах нейронов уже у новорожденных. Однако установление связей нейронов с сердцем характеризуется нелинейной динамикой, проявляющейся в наличии процессов возрастания и снижения количества связей с мишенями на протяжении изучаемых периодов. Окончательное формирование таких связей приходится на первый месяц жизни у крыс и второй месяц жизни у кошек.

# УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА КАК ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МАКАК-РЕЗУС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ИХ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ

З.Н. Ходотова 1, Л.Е. Иванова1, Е.А.Вершинина 1, И.А. Варовин 1, В.Н.Носов 2, К.Ю.Шелепин 3.

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

2 НИЦ "Арктика" ДВО РАН, Россия, Магадан,

3 ООО ЕМП, Россия, Санкт-Петербург

**Цель**-разработка методики оценки общего функционального состояние организма макак-резус в процессе длительных многонедельных наблюдений. В качестве меры-выбрана оценка концентрации кортизола в моче. Стрессовые воздействия активируют гипоталамо-гипофизарную систему, и адренокортикотропный гормон (АКТГ) поступает в кровоток, и, попадая в надпочечники, стимулирует выработку корой надпочечников кортизола. Когда уровень кортизола, достигает достаточного для обеспечения нормальной защитной реакции, образование АКТГ прекращается. Кортизол выводится из организма в основном с мочой. Таким образом, по концентрации кортизола в моче можно судить о состоянии гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы и косвенно судить о состоянии всего организма. **Метод получения материала.** Уровень кортизола в крови и моче подвержен суточным колебаниям. Для сбора суточной мочи нами разработаны поддоны для камер, в которых живут обезьяны. Сбор суточной мочи происходил ежедневно с 8.30 до 9.00 утра. Из каждого поддона мочу поочередно сливали в узкую высокую 1000 мл мензурку и измеряли объем выделенной за сутки мочи. Из мензурки с помощью шприца брали 4 мл мочи для исследований. Маркированные пробирки с мочой помещали в холодильник глубокой заморозки, при температуре минус 25 градусов С. **Животные.** Для исследования была отобрана группа из 6 обезьян, самцов, в возрасте от 5 до 12 лет. На время исследования, содержали в спокойной обстановке, из рациона питания убирали продукты, влияющие на концентрацию кортизола. **Техника измерений и результаты.** Измерение концентрации кортизола в моче определяли с помощью иммуноферментного анализатора Access2 (компания Beckman Coulter). В данном оборудовании используется принцип гетерогенного иммуноферментного анализа. [www.beckmancoulter.com](http://www.beckmancoulter.com) Результаты заносили в программу Microsoft Excel, анализ данных проводили с использованием комплекса SPSS Inc., Chicago, USA. Пределы изменений у животных составляли от  $2,41 \pm 1,6$ , у 6-ти летнего животного до  $8,47 \pm 5,1$ , у 10-летнего животного (указаны значения средних  $\pm$ СКО) (рис.1). Установлена зависимость уровня кортизола от возраста. Например, частота встречаемости значений выше 5 единиц наблюдается чаще у 10-12 летних, чем у 5-6-летних. ( $p < 0,01$ ).



Рис.1 Изменение суточного количества кортизола в течение 34 дней.

Установлено, что суточное количество кортизола колеблется и эти колебания коррелируют с колебаниями состояния когнитивных функций организма подопытных животных. Измеряли процент правильных ответов при выборе по образцу. Получена значимая отрицательная корреляция по Спирмену между уровнем кортизола и мотивацией,  $r = -0,188$ ,  $p = 0,009$ . Для связи между уровнем кортизола и активностью также установлена значимая отрицательная корреляция,  $r = -0,162$ ,  $p = 0,025$ . Эти данные нам говорят о том, что при высоком уровне стрессового гормона кортизола, степень активности и мотивации снижается. **Выводы.** Уровень кортизола в моче обезьян довольно устойчив, хотя и наблюдаются отдельные случайные выбросы. Установлена норма концентрации кортизола в моче у животных в лабораторных условиях. Установлено, что с возрастом возрастает концентрация кортизола в моче. Колебания суточного значения уровня

кортизола коррелируют с колебаниями когнитивных функций. Метод рекомендован для оценки состояния обезьян в лабораторных условиях, при соблюдении требования бесконтактного забора биологического материала для оценки функционального состояния при всевозможных воздействиях.

Ходотова З.Н., Иванова Л.Е., Вершинина Е.А., Варовин И.А., Носов В.Н., Шелепин К.Ю. 2013. Уровень кортизола как мера оценки состояния макак-резус//Сборник тезисов докладов//Всероссийская молодежная конференция «Нейробиология интегративных функций мозга». Санкт-Петербург, 2013, 68.

Ходотова З.Н., Иванова Л.Е., Пронин С.В., Варовин И.А., Шелепин Е.Ю., Кузнецова Т.Г., Голубева И.Ю., Носов В.Н. 2013. Методика определения уровня кортизола в суточной моче обезьян макак-резус//XVII Школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. Москва, 2013, 56.

## МЕТОДИКА ОБУЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ В ВИРТУАЛЬНОМ МИРЕ НА ТАКТИЛЬНОМ МОНИТОРЕ

З.Н. Ходотова<sup>1</sup>, Л.Е. Иванова<sup>1</sup>, С.В.Пронин<sup>1</sup>, И.А.Варовин<sup>1</sup>, Е. Ю.Шелепин<sup>1</sup>,  
Т. Г. Кузнецова<sup>1</sup>, И. Ю. Голубева<sup>1</sup>, В.Н.Носов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>НИЦ "Арктика" ДВО РАН, Россия, Магадан

**Цель** – разработка оборудования и компьютерных программ, обеспечивающих работу животных с тактильными дисплеями, что открывает уникальные возможности исследования когнитивных функций у животных самых различных видов. **Методы и результаты.** Созданы алгоритмы и программные средства для работы с кошками, макаками-резус и шимпанзе. Проведены исследования на кошках, макаках и шимпанзе. Перед кошкой располагали планшетный компьютер сдвигающемся по сенсорному экрану по случайной или упорядоченной траектории и мелькающему с заданной частотой тестовому изображению диска разного размера и контраста. При нажатии на диск он исчезал на некоторое время. Какого-либо подкрепления, за исключением звукового сигнала, кошка не получала. Кошки ловили стимул на протяжении нескольких десятков минут. Затем исследование было проведено на обезьянах. Создана группа из 6 половозрелых самцов макак-резус. Для проведения исследований ежедневно каждую обезьяну пересаживали в клетку из оргстекла, оборудованную поилкой, обеспечивающей, подачу сока, управляемую ЭВМ. Перед клеткой расположен сенсорный дисплей и управляющий исследованиями ноутбук (Рис.1).



Рис.1. Условия измерений при выборе реального объекта по образцу.

Управляющая исследованиями программа включает в себя следующие алгоритмы: синтез тестовых сигналов, метки появления сигналов, алгоритм обучения макаки игре с дисплеем, подачу сока за правильные ответы. Используются две экспериментальные парадигмы - обнаружение объекта из фона и выбор объекта по образцу. В режиме обнаружения на мониторе появляется изображение движущегося или мелькающего объекта. Скорость движения, частота мелькания, контраст, пространственно-частотный спектр изображения, цвет объекта и фона могли меняться. При правильной нажатии на место появления высококонтрастного, а затем в ходе обучения обнаружения малоконтрастного объекта, обезьяна получает подкрепление. Этот режим работы позволяет исследовать характеристики первичных каналов зрительной системы. В другом режиме - выбора по образцу так же изменяются характеристики формы объекта, его контраста и цвета. На экране присутствует образец и два объекта. Животное осуществляет выбор по образцу. Этот режим работы позволяет исследовать высшие когнитивные функции зрительной системы. **Выводы.** Животные

свободно оперируют рукой (передней лапой). Обучение им в большинстве дается легко, за исключением старых особей. Интерес представляет самостоятельный переход всех животных, как кошек, так и обезьян в игровой режим работы. Они увлечены игрой и зачастую не требуют подкрепления при работе с дисплеем.

Ходотова З.Н., Иванова Л.Е., Пронин С.В., Варовин И.А., Шелепин Е.Ю., Кузнецова Т.Г., Голубева И.Ю., Носов В.Н. 2013. Животные в виртуальном мире//Сборник тезисов докладов//Всероссийская молодежная конференция «Нейробиология интегративных функций мозга». Санкт-Петербург, 2013, 69.

Ходотова З.Н., Иванова Л.Е., Пронин С.В., Варовин И.А., Шелепин Е.Ю., Кузнецова Т.Г., Голубева И.Ю., Носов В.Н. 2013. Работа животных с тактильными дисплеями//XVII Школа-конференция молодых ученых по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии. Москва, 2013, 47.

## **СТРУКТУРНЫЕ НАРУШЕНИЯ В TRIGEMINAL MOTOR NUCLEUS ПРИ ДЕФИЦИТЕ СЕРОТОНИНА В ПРЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ У КРЫС**

Л.И.Хожай

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им.И.П.Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Нейроны trigeminal motor nucleus, разные популяции которых образуют сложную тригеминальную систему и формируют несколько подразделений ядра, контролируют ряд функций через эфферентную иннервацию ряда мышц (височной, крыловидных, жевательных, челюстно-подъязычных, мышц мягкого неба и т.д.) и включаются во многие ритмические орально-моторные движения, такие как сосание (во время вскармливания новорожденных), жевание, глотание и дыхание (через связи с респираторной сетью нейронов продолговатого мозга) и т.д. В работе изучали становление trigeminal motor nucleus у крысят с нарушением развития серотонинергической системы.

Показано, что недостаток серотонина в пренатальный период у крыс приводит к изменениям структурной организации trigeminal motor nucleus. На начальных сроках постнатального развития имеет место задержка развития нейропиля, уменьшение размеров клеточных тел, у отдельных нейронов частичная утрата вещества Ниссля, присутствие во всех частях ядра, и особенно в trigeminal motor nucleus ventromedial part, погибающих нейронов с признаками гиперхроматоза. Далее гибель мотонейронов замедляется, хотя часть из них имеет морфологические отклонения. При увеличении постнатального возраста (к P20) происходит снижение численности мотонейронов, видимо, в результате постепенного усиления клеточной гибели. Одновременно с дегенерацией мотонейронов в исследованных частях trigeminal motor nucleus наблюдается астроцитарный глиоз.

В норме у млекопитающих в тригеминальных ядрах выявлены отдельные серотонинергические нейроны, которые могут активно осуществлять регуляцию их функций, при этом серотонин оказывает на мотонейроны как возбуждающий, так и тормозный эффект. В раннем постнатальном периоде (P7) в trigeminal motor nucleus достигается пик экспрессии рецепторов к серотонину (5HT<sub>1A</sub>), а также значительно увеличивается плотность терминалей иммунореактивных на серотонин [1], что свидетельствует о функциональной значимости этого медиатора в trigeminal motor nucleus в ранний постнатальный период. Полученные данные свидетельствуют о том, что серотонин играет важную роль и в период становления trigeminal motor nucleus, которая может выражаться в осуществлении как трофики молодых развивающихся мотонейронов, так и стимуляции их конечной дифференцировки. Наблюдаемая дегенерация мотонейронов в постнатальный период, вероятно, может быть вызвана нарушением этих процессов.

## **ИЗМЕНЕНИЯ В ТОРМОЗНОЙ СИСТЕМЕ ЯДЕР ПНЕВМОТАКСИЧЕСКОГО ЦЕНТРА В НЕОНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС**

Хожай Л.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им.И.П.Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Регуляция активности нейронов дыхательного центра и генерация дыхательного ритма осуществляется нейронами пневмотаксического центра, который включает симметричные структуры дорсолатеральной области моста - медиальное субъядро медиальной части парабрахиального комплекса и ядро Кёлликера-Фюзе и представляет собой формацию гетерогенных структурно-функциональных нейронных образований. Целью работы было изучение влияния дефицита серотонина в пренатальный период на ГАМК-ергическую иннервацию структур пневмотаксического центра. Работа выполнена лабораторных крысах линии Wistar. Для выявления ГАМК-ергических нейронов использовали кроличьи поликлональные антитела (Spring Bioscience, США) к GAD-67, одной из изоформ фермента глутамат-декарбоксилазы. В качестве вторичных реагентов для GAD-67 использовали реактивы из набора EnVision+System-HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit (DakoCytomation, США).

Показано, что снижение эндогенного уровня серотонина в пренатальный период развития приводит к изменению ГАМК-ергической иннервации структур пневмотаксического комплекса. В ядре Кёлликера-Фюзе на ранних постнатальных сроках имеет место уменьшение числа ГАМК-ергических нейронов, которое к ювенильному возрасту повышается, однако при этом снижается интенсивность экспрессии GAD-67 как в цитоплазме нейронов, так и терминальных отростках, а также сокращается количество терминальных синаптических бутонов. Дефицит серотонина в медиальном субъядре парабрахиального комплекса приводит к снижению числа ГАМК-ергических нейронов как в раннем постнатальном периоде, так и ювенильном возрасте, уменьшению экспрессии GAD-67 в терминальных отростках в нейропиле, сокращению количества ГАМК-ергических синаптических бутонов и их скоплений. Полученные данные свидетельствуют о том, что при нарушении серотонинергической иннервации структур пневмотаксического центра может происходить изменение как ГАМК-ергической афферентации, так и его эфферентных проекций к мотонейронам диафрагмального ядра. Ослабление тормозного входа в ядра пневмотаксического центра, с одной стороны, и ослабление тормозного контроля структур мишеней, с другой- может быть основой для нарушения респираторной функции в ранний постнатальный период, причиной возникновения апноэ.

## **МЕТОДЫ КОМПЬЮТЕРНОЙ МОРФОМЕТРИИ И ИММУНОМОРФОЛОГИИ В РАСКРЫТИИ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ В ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ СТРУКТУРАХ МОЗГА**

Худоерков Р.М., Воронков Д.Н.

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Россия, Москва

Среди множества медицинских и социальных проблем современной неврологии следует выделить нейродегенеративные заболевания и, прежде всего, болезнь Паркинсона. Несмотря на определенные успехи в борьбе с этими недугами, достигнутыми за последние годы, необходимо признать, что этиология и патогенез этих заболеваний окончательно не выяснены. Существует несколько гипотез, пытающихся объяснить причины и происхождение нейродегенеративных процессов, в которых, несмотря на различие трактовок, просматривается одна закономерность – избирательная гибель дофаминовых нейронов в ядре черной субстанции головного мозга. Избирательная гибель может быть связана со структурно-функциональной и биохимической организацией нейронов и



особенностями их взаимодействия с нейроглией, но сведения по этому вопросу в литературе довольно ограничены, что и явилось целью настоящей работы.

Исследовали взаимодействие нейронов и нейроглии в дофаминергических структурах мозга крыс Вистар в норме и при экспериментальном паркинсонизме, который воспроизводили путем системного введения животным пестицида ротенона и нейротоксина 6-гидроксидофамина (6-OHDA), а везикулярный транспорт дофамина блокировали резерпином. Методами иммуногистохимии локализовали *тирозингидроксилазу* – маркер дофамина; *α-синуклеин* – основной компонент телец Леви; астроцитарные белки: *кислый глиофибрилярный белок (GFAP)*; *глутаминсинтетазу* – фермент глутамин-глутаматного цикла; белок *S100b*. Микроглию выявляли гистохимически биотинилированным лектином IB4, а дегенерирующие нейроны – красителем *FluoroJade C*. Методами компьютерной морфометрии (микроскоп Leica DMLB, оснащенный программой Leica QWin) и методами компьютерного моделирования (трёхмерная реконструкция распределения нейронов по всему объёму черной субстанции, создаваемая с помощью программ Leica Qwin, ImageJ и Bitplane Imaris) оценивали морфологические и нейрохимические показатели нейронов и нейроглии в черной субстанции и стриатуме мозга животных и изменения этих показателей под влиянием экспериментальных воздействий.

На основании проведенных исследований пришли к следующим заключениям: Морфохимические изменения при паркинсонизме, вызываемые ротеноном в нигростриатной системе, указывают на многофакторность его воздействия на нейроны и нейроглию и подчеркивают роль нарушений митохондриального дыхания при повреждении нигростриатной системы нейротоксинами.

Предложен способ морфометрической оценки нейроглии относительно нейронов, позволяющий количественно выразить пространственные характеристики глио-нейрональных отношений и их перестройки при патологических воздействиях.

Реакция астроцитов при моделировании паркинсонизма зависит не только от их воспалительного ответа на нейродегенерацию в черной субстанции, но и от снижения содержания дофамина в стриатуме, что изменяет баланс дофаминергической и глутаматергической систем в базальных ядрах.

На основании результатов проведенных исследований была построена модель трехмерной (3D) морфохимической организации черной субстанции мозга крысы, свидетельствующая о высокой морфохимической гетерогенности этого ядра и способствующая лучшему пониманию избирательного поражения дофаминовых нейронов при болезни Паркинсона.

*Работа частично поддержана грантом РФФИ 14-04-31922 мол\_a*

## **ИНТЕРНЕЙРОНЫ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ ЗОНЫ СЕРОГО ВЕЩЕСТВА СПИННОГО МОЗГА БЕЛОЙ КРЫСЫ**

Шилкин В.В., Порсева В.В.

Ярославская государственная медицинская академия, Россия, Ярославль

В последние годы большое внимание уделяется выявлению морфо-функциональных характеристик интернейронов спинного мозга (СМ), гетерогенность которых выходит далеко за рамки сложившихся представлений об их делении на пучковые (проекторные) и комиссуральные. Интернейроны промежуточной области серого вещества СМ преимущественно выполняют связующую функцию, как внутрисегментарную, так и межсегментарную, благодаря ипси- и контрлатеральным соединениям, а также соединениям между интернейронами дорзальных рогов и мотонейронами вентральных рогов СМ. Доподлинно известно, что объем и форма серого вещества СМ варьирует по всей его длине и имеет зависимость от сегментарного уровня, что обычно используется в целях идентификации конкретных сегментов СМ. Некоторые группы интернейронов, которые формируют определенные ядра (Кларка, Онуфа,

интермедиолатеральное) присутствуют только на определенных сегментарных уровнях СМ. Промежуточной зоне серого вещества СМ соответствует VII пластинка Рекседа, которая максимально расширена в объеме в утолщениях СМ и максимально сужена в грудных его сегментах. От первого грудного до первого поясничного сегментов СМ в латеральной порции этой пластинки располагается автономное ядро.

Целью настоящей работы явилось исследование топографии интернейронов промежуточной зоны СМ белой крысы Wistar, выявленных гистохимическими методами (определение активности ХЭ и НАДФ-диафоразы) и иммуногистохимическим методом с применением двойного мечения антителами к кальбинину с мол. массой 28 кДа (КАБ). Объектом исследования служили интернейроны второго грудного (Т2) и четвертого поясничного (L4) сегментов СМ крыс-самок 90-дневного возраста (n=10). Гистотопографию выявляемых интернейронов соотносили с пластинами Рекседа. Анализировались клетки, срез которых прошел через ядро.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что топографически выявленные интернейроны приурочены к VII пластине Рекседа в обоих сегментах СМ, но имеют различную ориентацию отростков. Интернейроны промежуточной зоны неоднородны и формируют в пределах пластины две субпопуляции клеток. Одна субпопуляция образует цепочку клеток вытянутой и треугольной формы, располагающуюся от задней серой спайки до латерального рога в Т2 и в L4 - от задней серой спайки до латерального края серого вещества СМ на границе пластин VII и V. Эта группа клеток, связанная отростками, имеющими идентичное медиолатеральное направление, ассоциируется с симпатическим ядром, которое подразделяется на промежуточно-латеральное, вставочное и центральное. Клетки другой субпопуляции располагаются в пластине VII диффузно, как одиночно, так и образуют в центральных областях пластины группы из двух-трех клеток: часть из них локализована преимущественно в дорзальной части пластины и представлена клетками округлой и вытянутой формы, отростки которых имеют дорзовентральное направление, направляясь к пластине V дорзального рога и проникая в вентральный рог; другая часть локализована в центральной части пластины и представлена округлыми клетками с радиальными отростками. Эта субпопуляция клеток соответствует разделительным клеткам (partition cell) промежуточной области СМ. В симпатических преганглионарных нейронах выявлена активность ХЭ, НАДФ-диафоразы и иммунореактивность к КАБ на обоих уровнях СМ. Разделительные клетки характеризуются позитивностью к ХЭ и к КАБ также в обоих сегментах СМ. Существенно, что в окружности центрального канала (X пластинка Рекседа) выявлены только клетки, обладающие активностью ХЭ и НАДФ-диафоразы, КАБ содержащие клетки в пластине X отсутствовали, но в окружности канала отмечалось интенсивное свечение в зеленом спектре.

Результаты исследования доказывают гетерогенность интернейронов промежуточной зоны СМ и идентичность топографии их субпопуляций для второго грудного и четвертого поясничного сегментов СМ.

## **ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ИЗМЕНЕНИЙ В ПОДКОРКОВОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ РАННЕМ КОСОГЛАЗИИ И МОНОКУЛЯРНОЙ ДЕПРИВАЦИИ**

Шкорбатова П.Ю., Топорова С.Н., Алексеенко С.В.

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург

Нарушения бинокулярного опыта в раннем возрасте, вызванные косоглазием, врожденной катарактой, со временем приводят к снижению остроты зрения глаза, искаженному восприятию движущихся объектов, сложности выделения фигуры из фона. Функциональные изменения при развитии этих признаков амблиопии глаза были выявлены в зрительной коре, в которой уменьшается количество бинокулярных клеток, снижается пространственная разрешающая способность нейронов.

В данной работе у взрослых кошек с экспериментально вызванным в возрасте 10-14 дней косоглазием, а также монокулярно депривированных кошек была оценена функциональная активность в глазоспецифичных слоях подкорковой структуры мозга, в дорсальном ядре наружного коленчатого тела (НКТд). Использовали гистохимический метод выявления цитохромоксидазы (ЦО) – митохондриального фермента дыхательной цепи, уровень активности которого коррелирует с функциональной активностью клеток: зоны с высокой активностью имеют более темную окраску. ЦО-активность в слоях А и А1 определяли по данным измерения оптической плотности на изображениях фронтальных срезов исследуемого ядра при помощи программы MorphoSlice, затем вычисляли коэффициент, характеризующий контраст между оптической плотностью в слое А и в слое А1:  $K=(A-A1)/(A+A1)$ .

У кошек с косоглазием по сравнению с нормой обнаружено достоверное увеличение значений коэффициента К, указывающее на уменьшение активности в слоях НКТд, иннервируемых из отклоненного глаза. Причем, такие изменения наблюдались в обоих полушариях и только в зоне проекции центральной части поля зрения. Подобные исследования ЦО-активности в слоях НКТд, проведенные на монокулярно депривированных кошках, показали, что увеличение значений К наблюдается в пределах всей проекции поля зрения, независимо от эксцентриситета. Полученные данные свидетельствуют о нарушениях функциональной активности в НКТд при дисбинокулярной и депривационной амблиопии и указывают на различие механизмов, которые их обуславливают.

*Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 14-04-31655*

