

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА ФИЗИОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ
ЗВЕНИГОРОДСКАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ
СТАНЦИЯ имени С.Н. СКАДОВСКОГО



III МОЛОДЕЖНАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ
«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ»

13–15 сентября 2019 г.

Сборник материалов

Москва
2019

M.V. LOMONOSOV MOSCOW STATE UNIVERSITY
FACULTY OF BIOLOGY
DEPARTMENT OF HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY
S.N. SKADOVSKY ZVENIGOROD BIOLOGICAL STATION



III WORKSHOP FOR YOUNG SCIENTISTS

«MOLECULAR MECHANISMS OF PHYSIOLOGICAL FUNCTIONS»

13–15 September 2019

Abstract book

Moscow
2019

УДК 612(063)
ББК 28.707я2
В87

Третья молодежная школа-конференция «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» посвящается памяти выдающегося русского физиолога, академика РАН Евгения Евгеньевича Никольского

Под редакцией:

заведующего кафедрой физиологии человека и животных д.б.н., проф. *А.А. Каменского*,
директора Звенигородской биологической станции д.б.н., доц. *В.М. Гаврилова*,
в.н.с. кафедры физиологии человека и животных д.б.н. *Д.В. Абрамочкина*,
доцента кафедры физиологии человека и животных к.б.н. *В.С. Кузьмина*

При поддержке:

кафедры физиологии человека и животных МГУ имени М.В. Ломоносова,
биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова,
Звенигородской биологической станции МГУ имени С.Н. Скадовского,
Центра морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова

В87 Третья молодежная школа-конференция «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций» : сборник материалов / [Под редакцией А.А. Каменского, В.М. Гаврилова, Д.В. Абрамочкина, В.С. Кузьмина]. – М.: Издательство «Наука», 2019. – 82 с. – ISBN 978-5-6043378-0-6.

Сборник представляет собой материалы школы-конференции «Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций», включая рефераты пленарных лекций и тезисы докладчиков конференции. Рефераты пленарных лекций и докладов позволяют составить представление о современном состоянии вопросов фундаментальной физиологии: молекулярных механизмах реализации функций в сердечно-сосудистой системе, электрофизиологии сердца, синаптической передаче и работе центральной нервной системы.

Издание может быть полезным преподавателям и студентам биологических и медицинских специальностей университетов, медицинских ВУЗов, обучающимся по направлениям: физиология, фармакология, биофизика.

УДК 612(063)
ББК 28.707я2

Научное издание

**Третья молодежная школа-конференция
«Молекулярные механизмы регуляции физиологических функций»**
Сборник материалов конференции

Подписано в печать 04.09.19. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Формат 60×84/16. Тираж 100 экз. Заказ Т-233-19.

Отпечатано в типографии издательства с материалов, предоставленных авторами.

ISBN 978-5-6043378-0-6

© Биологический факультет МГУ, 2019
© Звенигородская биологическая станция
имени С.Н. Скадовского, 2019
© Коллектив авторов, 2019

ПЛЕНАРНЫЕ ЛЕКЦИИ

ВКЛАД АКАДЕМИКА Е.Е. НИКОЛЬСКОГО В РАЗВИТИЕ СОВРЕМЕННЫХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ФУНКЦИОНИРОВАНИИ СИНАПТИЧЕСКОГО КОНТАКТА

Маломуж А.И.

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

Евгений Евгеньевич Никольский (11.04.1947 — 14.06.2018) является одним из ярких представителей Казанской физиологической школы, основателем которой принято считать Ф.В. Овсянникова, возглавившего в 1858 году кафедру физиологии Казанского Императорского университета. Среди наиболее известных представителей этой школы такие учёные, как Н.О. Ковалевский, Н.А. Миславский, В. М. Бехтерев, А.Ф. Самойлов, А.В. Кибяков.

Одним из центральных направлений исследований в Казанской школе физиологов с 30-х годов XX века и по настоящий момент становится изучение процессов сигнализации в периферических синапсах и в, частности, в нервно-мышечном контакте. Именно этот объект и процессы, протекающие в нём, и стали основным предметом исследований Евгения Евгеньевича Никольского. В 1974 г. им защищена кандидатская диссертация на тему «Механизм мионеврального блока при непрямом низкочастотном раздражении скелетной мышцы и участие ацетилхолина в процессах саморегуляции в синапсе». Помимо исследований механизмов утомления скелетных мышц, кинетики активации и инактивации рецепторно-канальных комплексов постсинаптической мембраны, большое внимание Е.Е. Никольский уделяет роли и свойствам пресинаптических холинорецепторов, что позволяет в 1990 году защитить диссертацию на соискание степени доктора медицинских наук «Пресинаптическая холинорецепция в нервно-мышечном синапсе».

Определенную известность в мировом сообществе Евгению Евгеньевичу приносит цикл работ, в которых демонстрируется, что порции («кванты») медиатора выделяются из нервного окончания в ответ на нервный импульс не синхронно, а с некоторой дисперсией. Оказалось, что степень синхронности выделения квантов медиатора способна регулироваться физиологически активными веществами и в настоящее время этот механизм рассматривается как один из эффективных способов модуляции передачи возбуждения.

Значительное внимание Евгений Евгеньевич уделяет изучению механизмов модуляции синаптической передачи возбуждения некоторыми представителями фосфорорганических соединений, предложенными для доклинических испытаний в качестве лекарственных средств для лечения болезни Альцгеймера.

Основную же известность Евгению Евгеньевичу приносит цикл работ по изучению процесса неквантового выделения медиатора. Именно Е.Е. Никольским были получены доказательства того, что механизм данного процесса обладает специфической зависимостью от температуры и концентрации внеклеточных ионов, способен регулироваться различными синаптически активными молекулами независимо от процессов квантовой секреции. При этом установлено, что блокируется неквантовое выделение ацетилхолина из двигательных нервных окончаний повышением концентрации внеклеточного магния, а также ингибиторами везикулярного транспорта ацетилхолина и системы захвата холина высокого сродства. Кроме того, получен ряд данных, демонстрирующих физиологическую роль неквантового выделяемого ацетилхолина в процессах синаптогенеза и регуляции ряда функциональных свойств мышечных волокон. За большой вклад в исследовании неквантовой секреции медиатора в 1993 г. Е.Е. Никольский награжден высшей наградой АН Чехии - медалью им. Й.Главки, а в 1995 г. - медалью им. Я.Пуркинье.

Интенсивная научная, организационная и педагогическая деятельность Евгения Евгеньевича была отмечена присвоением званий профессор, заслуженный деятель науки Республики Татарстан, заслуженный деятель науки Российской Федерации, академик РАН.

СЕКЦИЯ
«МЕХАНИЗМЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ И РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ СЕРДЦА»

**МЕЛАТОНИН КАК АНТИАРИТМИЧЕСКИЙ АГЕНТ:
ГОРМОН ИЛИ АНТИОКСИДАНТ?**

Азаров Я.Э.

Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Республика Коми, Россия

Медицинский институт Сыктывкарского государственного университета имени Питирима Сорокина, Сыктывкар, Республика Коми, Россия

Желудочковые тахикардии, в особенности фибрилляция желудочков, являются распространенными (нередко фатальными) осложнениями острого инфаркта миокарда. Для профилактики таких осложнений необходимо создание кардиопротекторных препаратов с антиаритмическими свойствами. К числу перспективных кандидатов на эту роль относится мелатонин, чье положительное действие чаще всего приписывается антиоксидантным свойствам этого вещества. С другой стороны, мелатонин является гормоном, для которого охарактеризовано несколько сигнальных путей через мембранные, цитоплазматические и ядерные рецепторы. Роль этих путей в реализации защитных и, в частности, антиаритмических эффектов мелатонина остается малоизученной.

Фибрилляция желудочков есть электрофизиологический феномен, поэтому разумно предотвращать такие аритмии, действуя через электрофизиологические мишени. Многие антиоксиданты вызывают выраженные электрофизиологические эффекты в ишемических условиях. Вещества с антиоксидантными свойствами, в том числе мелатонин, значительно снижают дисперсию реполяризации – важнейший фактор аритмогенеза. Несмотря на выраженные *электрофизиологические* эффекты, *антиаритмическое* действие антиоксидантов наблюдается далеко не всегда. В отличие от многих других препаратов, мелатонин снижает количество фибрилляций желудочков в экспериментальной модели ишемии-реперфузии. Он не только снижает дисперсию реполяризации, но и ускоряет проведение возбуждения в миокарде. Влияние мелатонина на возбуждение утрачивается при блокаде MT1/MT2 мелатониновых рецепторов, но не связано с параметрами окислительного стресса. Это же действие на активацию желудочков связано со снижением встречаемости фибрилляции желудочков. Полученные данные свидетельствуют об участии мелатонинового сигнального пути в реализации антиаритмического действия мелатонина.

**УПРАВЛЕНИЕ АРИТМОГЕННОЙ ГОТОВНОСТЬЮ МИОКАРДА ПУТЕМ
ПРЯМОГО КОНТРОЛЯ ДЛИТЕЛЬНОСТИ РЕПОЛЯРИЗАЦИИ В
ПЕРФУЗИРУЕМОЙ ОБЛАСТИ В МОДЕЛИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ**

Берникова О.Г.¹, Седова К.А.^{1,2}, Вайкшнорайте М.А.¹, Азаров Я.Э.^{1,3}

¹*Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия*

²*Факультет биомедицинской инженерии Чешского технического университета, Прага, Чехия*

³*Медицинский институт Сыктывкарского государственного университета им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия*

В условиях коронарной окклюзии доступной мишенью для терапии является только перфузируемая область миокарда, в которую возможно поступление лекарственных препаратов, вводимых в системный кровоток. Ранее нами была выявлена ретроспективная связь между реперфузионными желудочковыми тахикардиями и увеличенной длительностью реполяризации в пограничной (перфузируемой) зоне. В данном исследовании проверена гипотеза о возможности модифицирования риска возникновения реперфузионных

желудочковых тахикардий путем прямого контроля длительности реполяризации в перфузируемой области миокарда.

Методы: Эксперименты проводились на открытом сердце 4-5 мес крыс линии Wistar (n=30). Униполярные электрограммы регистрировали с использованием 64 отведений эпикардиальной матрицы в ишемизированной и неишемизированной (перфузируемой) областях в исходном состоянии, во время обратимой окклюзии левой передней нисходящей коронарной артерии (ЛКА, 5 мин) и последующей реперфузии (10 мин). В каждом отведении определяли время активации (АТ) и время окончания реполяризации (RT), как $dV/dt \min$ в период QRS комплекса и $dV/dt \max$ в период Т волны, соответственно. Интервал активация-реполяризация (ARI), служившего суррогатным показателем длительности потенциала действия, определялась, как разность между RT и АТ. Дисперсия реполяризации высчитывали, как разность между максимальным и минимальным значениями RT во всех зарегистрированных отведениях ПЖ и ЛЖ. Размер области ишемического поражения оценивали по числу эпикардиальных отведений с подъемом сегмента ST, зарегистрированных в области ишемии. В период реперфузии по данным ЭКГ проведена оценка возникающих желудочковых аритмий. Незамедлительно после острой окклюзии ЛКА в системный кровоток вводились: в группе ТЕА (n=9) – тетраэтиламмоний, 4 мг/кг; в группе Pin (n=11) – пинацидил, 0,3 мг/кг; в контрольной группе (n=10) - физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Результаты:

Размер области ишемического повреждения не различался между группами: 87(88;95)% - отведений с подъемом ST в зоне ишемии в контрольной группе, 84(75;100)% - в группе Pin, 86(81;95)% - в группе ТЕА ($p>0.05$). Во время окклюзии в зоне ишемии для всех животных было характерно увеличение времени активации (АТ), уменьшение показателей реполяризации RT и ARI. В перфузируемой области АТ не изменялось во всех группах, ARI увеличивался в группе ТЕА [31(26; 34) vs 25(22;28) мс, $p=0.012$], уменьшался в группе Pin [18(16;21) vs 24(22;28) мс, $p=0.005$] и не изменялся в контрольной группе [27(25;28) vs 26(24;28) мс, $p>0.05$], относительно исходных значений.

Дисперсия реполяризации увеличивалась во всех группах во время ишемии/реперфузии, но была больше в группе ТЕА-15(9;19) vs 4(1;8) мс ($p=0.016$) и vs 5(4;11) мс ($p=0.04$) в контрольной и Pin группах, соответственно.

Фатальные желудочковые тахикардии (ЖТ/ФЖ) наблюдались в течение первых минут реперфузии в группе контроля - у 6 из 10 крыс, в группе Pin – у 2 из 11 крыс, в группе ТЕА - 9 из 9. Таким образом, в группе Pin жизнеугрожающие реперфузионные аритмии встречались реже, а в группе ТЕА чаще ($\chi^2=13.562$, $p=0.002$). В модели логистического регрессионного анализа, включающего показатели активации, реполяризации и дисперсии реполяризации, возникновение ЖТ/ФЖ было ассоциировано только с ARI перфузируемой области ($B=1.151$, 95% CI 1.017-1.302, $p=0.026$).

Вывод: Частоту возникновения реперфузионных желудочковых тахикардий можно модифицировать путем прямого контроля длительности реполяризации в перфузируемой области миокарда.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ № 18-315-00339.

Список литературы.

1. Bernikova O.G., Sedova K.A., Arteyeva N.V. et al.// J Electrocardiol. 2018. V.51(3). P.542-548.

ВЛИЯНИЕ ПРОБЕНЕЦИДА НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ЭФФЕКТЫ АТФ В ПРЕДСЕРДНОМ МИОКАРДЕ КРЫСЫ: ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ ПАННЕКСИНОВ В ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ РАБОТЫ СЕРДЦА

Воронина Я.А.¹, Кузьмин В.С.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

²Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Известно, что внеклеточные пуриновые нуклеотиды, такие как АТФ, являются котрансмиттерами в вегетативной нервной системе либо самостоятельными регуляторными соединениями и вызывают целый ряд эффектов в сердце посредством активации мембранных рецепторов P1 и P2 типа. Показано, что эффекты АТФ реализуются за счет активации рецепторов нескольких типов, в том числе рецепторов-ионных каналов P2X. Однако, к настоящему времени механизмы действия внеклеточного АТФ в миокарде остаются изученными не полностью. Известно, что функционирование P2X-рецепторов тесно связано с паннексинами – трансмембранными белками, формирующими поры, проницаемые для ионов и низкомолекулярных соединений. Активация P2X рецепторов, например, P2X7, приводит к увеличению проводимости паннексинов [1]. Данная работа направлена на выяснение потенциальной роли паннексинов, активированных внеклеточным АТФ, в регуляции биоэлектрической активности рабочего предсердного миокарда и автоматии синоатриального узла в сердце млекопитающих.

Эксперименты проводили с использованием изолированных многоклеточных препаратов, выделенных из предсердия взрослых самцов крыс стока Wistar (250-270 г) и сердца кролика (Шиншилла, 4000 г). В работе было использовано 26 крыс и 8 кроликов. Для описания эффектов блокады паннексинов на биоэлектрическую активность предсердного миокарда и автоматии синоатриального узла млекопитающих проводили эксперименты с изолированными с использованием стандартной микроэлектродной техники внутриклеточной регистрации потенциалов действия (ПД). Регистрация электрической активности в сердце кролика сердца проводилась на участке правого предсердия, включающего синоатриальный узел (САУ).

Для выявления роли паннексинов использовали пробенецид, проявляющий блокирующие свойства к паннексинам типа 1. Пробенецид является жирорастворимым производным бензойной кислоты, разработанным для снижения экскреции выведения пеницилина более 60 лет назад, и с тех пор он используется для повышения концентрации некоторых антибиотиков в плазме крови. Кроме того, пробенецид является конкурентным ингибитором органического анионного транспортера, применялся в качестве средства при фармакологической терапии нарушений обмена веществ, в том числе подагры [2].

Несмотря на то, что данное соединение используется в клинике продолжительное время, самостоятельные эффекты пробенецида, в частности на миокардиальную ткань, не изучены. В данной работе оценивали эффекты пробенецида на такие параметры как длительность потенциала действия на уровне реполяризации 50% и 90% (ДПД90 и ДПД50 соответственно) в рабочем миокарде правого предсердия и частота генерации ПД в САУ. В данной работе использовали препараты сердца кролика, так как кролик является наиболее подходящим объектом для регистрации пейсмекерных ПД от центральной части САУ, Потенциальный вклад паннексинов в пуринергическую регуляцию работы сердца изучали оценивая длительность электрически вызванных ПД (5 Гц) и характер пейсмекерной активности в САУ при активации пуриновых рецепторов с помощью АТФ (10 мкМ) или α,β -метилтен-АТФ (агонист P2X-рецепторов, 10 мкМ) в контрольных условиях и на фоне пробенецида.

В миокарде правого предсердия крысы при аппликации 10 мкМ пробенецида происходило достоверное снижение ДПД90 на $16\pm 2\%$ ($n=21$, $p<0.05$) и ДПД50 на $23\pm 2\%$ ($n=21$, $p<0.05$).

В контрольной группе в наших экспериментах АТФ снижал ДПД90 и ДПД50 в рабочем миокарде правого предсердия крысы до $76 \pm 5\%$ ($n=20$, $p<0.05$). В свою очередь на фоне пробенецида снижение длительности ПД, вызванное АТФ было статистически значимо меньше: ДПД90 составляла $93 \pm 9\%$ ДПД50 - $94 \pm 10\%$ ($n=9$, $p<0.05$) от контрольного уровня. Агонист P2X-рецепторов - α, β -метилен-АТФ вызывал снижение ДПД90? до $79\% \pm 6\%$ ($n=5$, $p<0.05$), однако, на фоне пробенецида α, β -метилен-АТФ не был способен вызвать укорочение ПД. Таким образом, пробенецид частично подавляет эффекты АТФ и полностью предотвращает способность α, β -метилен-АТФ укорачивать ПД в предсердном миокарде крысы.

Выраженных самостоятельных эффектов пробенецида на характер пейсмерной активности, а также параметры ПД в САУ не наблюдали. Также пробенецид не вызывал изменения частоты генерации ПД в препаратах САУ кролика и спонтанно активных препаратах сердца крысы. Пробенецид также не оказывал значительного влияния на снижение частоты спонтанных ПД в САУ кролика при действии АТФ ($n=6$) и α, β -метилен-АТФ ($n=5$).

Таким образом, пробенецид, снижая длительность ПД на уровне реполяризации 90% и 50%, оказывает самостоятельное действие в предсердном миокарде крысы. Этот эффект может быть обусловлен как неспецифическим действием пробенецида, так и подавлением базальной катионной проводимости паннексинов. Кроме того, пробенецид подавляет эффекты АТФ и α, β -метилен-АТФ в рабочем, но не пейсмерном миокарде. Наиболее выраженное действие пробенецида наблюдали при активации P2X рецепторов, среди которых присутствуют подтипы, сопряженные с паннексинами. Можно предположить, что пробенецид предотвращает усиление ионной проводимости паннексинов-1, вызванное активацией P2X-рецепторов. Результаты данной работы позволяют предположить, что паннексины принимают участие в пуринергической регуляции биоэлектрической активности рабочего, но не пейсмерного миокарда на постсинаптическом уровне.

Список литературы.

1. Pelegrin P., Surprenant A. // *EMBO Journal*. 2006. V. 21(25). P.5071–5082.
2. Robbins N., Koch S.E., Tranter M. et al. // *Cardiovascular Toxicology*. 2012. V. 1(12). P.1–9.

ВЛИЯНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА АКТИВНО-МИОЗИНОВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В МИОКАРДЕ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ СЕРДЦА КРЫС

Герцен О.П., Набиев С.Р., Никитина Л.В.

ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности в мире, при этом воздействие различных токсикантов может способствовать как возникновению, так и обострению этих патологий. Один из наиболее распространенных тяжелых металлов – свинец – присутствует в воде, воздухе, почве, домашней пыли и продуктах питания. Накопление данного ксенобиотика в среде характеризуется стойкостью, а токсическое воздействие продолжается через много лет после прекращения промышленной эмиссии. Доказано, что хроническая свинцовая интоксикация вызывает артериальную гипертензию, повышает уязвимость миокарда к аритмиям, снижает скорость проведения возбуждения по волокнам Пуркинье и может быть причиной вторичных нарушений работы сердца [1].

Цель – изучить влияние ионов свинца на механическую функцию миокарда в различных отделах сердца на молекулярном уровне.

МЕТОДЫ. Аутбредным крысам-самцам массой 300г и возрастом 3 месяца на начало эксперимента внутрибрюшинно вводили сублетальные дозы ацетата свинца (однократно 12,5 мг/кг веса) 3 раза в неделю в течение 5 недель (группа «Pb»). Крысы контрольной группы («К») получали тот же объем стерильной дистиллированной воды аналогичным образом.

Методом искусственной подвижной системы (*in vitro* motility assay) определяли скорость движения реконструированных тонких филаментов, состоящих из актина, тропонина и тропомиозина, по миозинам, выделенным из предсердий, правого и левого желудочков сердца крыс групп «Pb» и «K» при разных концентрациях кальция в растворе. Влияние свинцовой интоксикации на сократительную активность миокарда оценивали по максимальной скорости движения филаментов, кальциевой чувствительности (pCa_{50}) и коэффициенту кооперативности Хилла кривых pCa -скорость [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ. Наличие свинцовой интоксикации крыс экспериментальной группы было подтверждено типичными для данной интоксикации нарушениями порфиринового биосинтеза, «свинцовой анемией», а также показателями гепатотоксичности [3].

Свинцовая субхроническая интоксикация снижала максимальную скорость движения реконструированных тонких филаментов по миозину как предсердий (V_{max} в группе «K» = 4.66 ± 0.23 и 2.95 ± 0.31 в группе «Pb»), так и правого (V_{max} в группе «K» = 2.8 ± 0.48 и «Pb» = 1.94 ± 0.52) и левого (V_{max} в группе «K» = 3.10 ± 0.30 и «Pb» = 2.61 ± 0.23) желудочков.

Кальциевая чувствительность при этом статистически значимо снижалась в левом желудочке (pCa_{50} в группе «K» 6.46 ± 0.14 и в группе «Pb» = 6.30 ± 0.11) и в предсердиях (pCa_{50} в группе «K» 6.7 ± 0.11 и в группе «Pb» = 6.5 ± 0.09 , при этом в правом желудочке (pCa_{50} в группе «K» 6.43 ± 0.13 и в группе «Pb» = 6.3 ± 0.15) наблюдалось не значимое снижение

Коэффициент кооперативности Хилла кривой зависимости pCa -скорость был выше в группе «Pb» по сравнению с контрольной группой для миозинов всех отделов, но при этом статистические незначимы. Коэффициент Хилла в группах «K» and «Pb» соответственно для предсердного миозина равен 2.75 ± 1.3 и 3.47 ± 1.4 , миозина правого желудочка равен 2.3 ± 0.8 и 3.3 ± 1.3 , и для миозина левого желудочка был 2.20 ± 0.38 и 2.39 ± 0.89 .

ВЫВОДЫ. Выраженная системная свинцовая интоксикация крыс приводит к значимому снижению кальциевой чувствительности миозина предсердий и левого желудочка, снижение для миозина правого желудочка было статистически незначимым. Коэффициент кооперативности Хилла для миозинов всех отделов был незначимо выше в экспериментальной группе, подвергнутой свинцовой интоксикации. Максимальная скорость движения реконструированных тонких филаментов по миозину всех отделов сердца, что объясняется изменением соотношения тяжелых цепей миозина в сторону более медленных [3]. Данные изменения кальциевой регуляции и скорости могут свидетельствовать о наличии возможной гипертрофии сердца под влиянием субхронической свинцовой интоксикации.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП ИИФ Уро РАН в рамках темы ИИФ Уро РАН №АААА-А19-119070190064-4.

Список литературы.

1. Герцен О.П., Симанова Ю.А., Набиев С.Р. и др. // Физика. Технологии. Инновации ФТИ-2019 VI Международная молодежная научная конференция, посвященная 70-летию основания Физико-технологического института. 2019. С.1051-1053.
2. Никитина Л.В. и др. // Успехи биол. Химии. 2015. Т.55. С.255–288.
3. Protsenko Y.L., Katsnelson B.A., Klinova S.V. et al. // Food and Chemical Toxicology. 2018. V.120. P.378–389.

ЭФФЕКТЫ ПРЕРЫВИСТОГО ГОЛОДАНИЯ НА МАССУ ТЕЛА, БАЛАНС ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У КРЫС

Джуманиязова И.Х., Хиразова Е.Э., Байжуманов А.А.

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

Ожирение, от которого страдает более 39% взрослого населения планеты, – проблема современного общества, привлекающая к себе большое внимание. Наличие лишнего веса может вызвать заболевания сердечно-сосудистой системы, диабет II типа, рак различных отделов желудочно-кишечного тракта [1]. Ожирение может возникнуть по нескольким причинам, но основной является поглощение энергии, превышающей затрачиваемую на основной обмен и физическую активность. Такой энергетический дисбаланс возникает при малоподвижном образе жизни и несбалансированном питании. Различные диеты являются распространенной формой контроля веса и считаются хорошей стратегией для похудения [2]. Прерывистое голодание относится к особому виду диет, при которых изменяется не количество поглощенной пищи, а время ее приема. Влияние его на функционирование организма разнообразно – снижение веса, изменение жирового обмена, увеличение продолжительности жизни, изменение окислительно-восстановительного баланса некоторых органов [3].

В связи с возрастающим вниманием, направленным на поддержание нормального веса тела, все больше людей, не страдающих от избыточной массы, придерживаются диет. Но большинство работ по прерывистому голоданию выполняется на животных, у которых предварительно индуцировано ожирение, а исследования на объектах с нормальным весом практически не проводятся. Поэтому представляется интересным выяснить эффект данного режима питания на организм, обладающий нормальной массой тела.

Целью представленной работы было выяснение эффектов прерывистого голодания на массу тела, вариабельность сердечного ритма и состояние антиоксидантной системы у крыс линии Wistar.

Средняя масса самцов (n=14) на начало эксперимента составила 260 грамм, самок (n=22) – 185 грамм, возраст – 3 месяца. Животные содержались в виварии с поддержанием двенадцатичасового светового режима. Температура воздуха и влажность были постоянными ($22 \pm 2^\circ\text{C}$ и $25 \pm 10\%$ соответственно). Во время эксперимента для кормления животных использовался стандартный комбикорм для грызунов. Разделение на контрольную и опытную группы производили по массам. Животные контрольных групп содержались в условиях *ad libitum*, животные опытной группы в течение 4 дней выполняли протокол прерывистого голодания (доступ к пище только в период с 12:00 до 13:00 по московскому времени). В последние сутки депривации проводили регистрацию поведенческой активности в тесте «Открытое поле» и регистрацию ЭКГ, проводили забор крови и печени для последующего биохимического анализа активности компонентов антиоксидантной системы защиты. При статистической обработке использовали тест two-way ANOVA с поправкой Сидака.

Выявлено, что предложенный тип прерывистого голодания приводит к значительному уменьшению массы тела к концу периода выполнения четырехдневного протокола прерывистого голодания у самцов (на 17% относительно контрольных значений, $p=0.001$), но не у самок крыс.

Анализ показателей вариабельности сердечного ритма после окончания депривации, не выявил изменений у самцов; у самок наблюдали увеличение значения индекса RMSSD (косвенно отражающего вклад автономного контура в регуляцию сердечного ритма) на 64.5% ($p=0.0276$).

У самок крыс активность супероксиддисмутазы крови значительно уменьшилось (на 24%, $p=0.015$), так же, как и активность каталазы (на 24%, $p=0.026$). Наблюдали увеличение концентрации церулоплазмينا крови как у самцов, так и у самок (на 32.5%, $p=0.003$ и 18.5%, $p=0.02$, соответственно). С другой стороны, отсутствовали изменения в содержании ТБК-

активных продуктов (продуктов перекисного окисления липидов) и небелковых тиолов после периода прерывистого голодания у крыс обоих полов как в крови, так и в печени.

Таким образом, прерывистое голодание в течение 4 дней у самок крыс значимо не изменяет массу, но приводит к увеличению влияния автономного контура регуляции сердечной деятельности, изменению состояния нескольких компонентов антиоксидантной системы; у самцов наблюдается уменьшение массы тела и увеличение уровня церулоплазмينا крови.

Список литературы.

1. Hruby A., Hu F.B. // *Pharmacoeconomics*. 2015. V.33(7). P.673–689.
2. Strychar I. // *Can. Med. Assoc. J.* 2006. V.174(1). P.56–63.
3. Chausse B. et al. // *PLoS One* / под ред. Gueven N. 2015. V.10(3). P.e0120413.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОКАРДА СЕРДЦА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Дуркина А.В.

Институт физиологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

Цель работы: сравнить электрофизиологические особенности эпикарда крыс разного возраста.

Исследования проводили на открытом сердце самцов крыс линии Вистар при спонтанном синусно-предсердном ритме. Животные были разделены на 3 группы: молодые (4 месяца, $n=21$), средневозрастные (6,5 месяцев, $n=7$), старые (24 месяцев, $n=15$). При обращении с животными соблюдали международные правила (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals - публикация US National Institutes of Health: NIH Publication № 85-23, ред. 1996). Животных наркотизировали, переводили на искусственную вентиляцию лёгких. Выполняли торакотомию. В течение эксперимента внутриполостную температуру поддерживали на уровне 37-38°C. Запись 64 униполярных электрограмм проводилась при помощи электродной матрицы. В каждом отведении определяли время активации (*AT*), время окончания реполяризации (*RT*), длительность реполяризации оценивали по интервалу активация-восстановление (*ARI*).

Межжелудочковый градиент реполяризации рассчитывали как разность между средними показателями реполяризации (*RT* и *ARI*) левого (ЛЖ) и правого желудочка (ПЖ). Для межгруппового сравнения использовался критерий Манна-Уитни, регрессионный анализ применялся для проверки связи между массой тела, возрастом и электрофизиологическими показателями.

В группе 4-месячных животных *AT* различалось в левом ($12\pm 1,7$ мс) и правом желудочках ($11,3\pm 2$ мс) при $p=0,05$. *RT* и *ARI* в ЛЖ были больше по сравнению с показателями реполяризации в ПЖ ($42,2\pm 4,1$ и $30,2\pm 3,4$ против $33,6\pm 4,5$ и $22,3\pm 4,2$) при $p=0,01$, что приводило к появлению межжелудочкового градиента реполяризации.

У 6,5-месячных животных *AT* в ЛЖ и ПЖ не различалось. *RT* было больше в левом желудочке – $35,1\pm 3,1$ мс и меньше - в правом – $29,7\pm 4,9$ мс ($p=0,01$). Различий между *ARI* разных областей желудочков выявлено не было.

Время активации у 24-месячных животных в ЛЖ и ПЖ, а также показатели реполяризации не имели различий.

При сравнении электрофизиологических показателей миокарда крыс 4 и 6,5 месяцев *AT* не различались. *RT* в ЛЖ было больше у 4-месячных ($42,2\pm 4,1$ мс), чем у 6,5-месячных животных ($35,1\pm 3,1$ мс) при $p=0,01$. *ARI* в ЛЖ был больше у 4-месячных животных ($p=0,01$). *RT* в ПЖ больше у молодых крыс, чем у 6,5-месячных ($p=0,01$). Показатель *ARI* ПЖ у средневозрастных крыс был меньше по сравнению с 4-месячными крысами и составлял $19,3\pm 4,9$ мс и $22,3\pm 4,2$ мс, соответственно ($p=0,05$).

При сравнении 4- и 24-месячных крыс различий в показателях AT установлено не было. RT в ЛЖ было больше в группе молодых животных ($42,2 \pm 4,1$ мс), более короткое – в группе старых ($30,3 \pm 5,6$ мс) при $p=0,01$. ARI в ЛЖ 4-месячных животных на 11,4 мс длиннее, чем у крыс 24 месяцев ($p=0,01$). Показатель RT ПЖ был равен $33,6 \pm 4,5$ мс и $31 \pm 5,1$ мс у молодых и старых крыс соответственно ($p=0,05$). ARI ПЖ был больше у 4-месячных крыс. Таким образом, межжелудочковый градиент RT и ARI больше в группе молодых крыс, межжелудочковые различия реполяризации исчезают в группе старых крыс.

При сравнении крыс 6,5 и 24 месяцев RT ЛЖ составлял $35,1 \pm 3,1$ мс и $30,3 \pm 5,6$ мс соответственно ($p=0,01$). Следовательно, ARI ЛЖ больше в средневозрастной группе животных ($p=0,01$). Подобное различие параметров RT и ARI миокарда ПЖ данных возрастных групп установлено не было. Межжелудочковый градиент реполяризации выявлен в группе крыс среднего возраста и исчезает в группе 24-месячных крыс.

В ходе регрессионного анализа было выявлено, что при повышении возраста и соответственно, при увеличении массы тела животного, длительность реполяризации миокарда левого и правого желудочков уменьшается (Рис.1.).

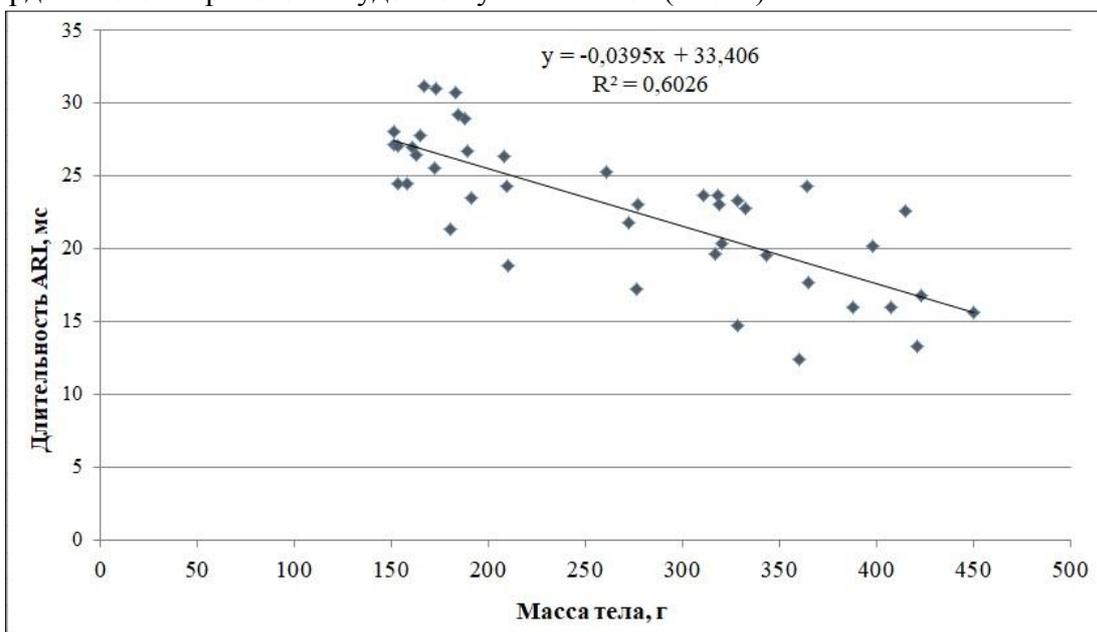


Рис. 1. Зависимость локальной длительности реполяризации от массы тела крыс.

Таким образом, с увеличением возраста и массы тела происходит укорочение длительности реполяризации миокарда и сглаживание межжелудочкового градиента реполяризации. Поскольку продолжительность фазы реполяризации ПД сердца определяется токами K^+ и Ca^{2+} можно предположить, что уменьшение длительности реполяризации миокарда средневозрастных и старых крыс связано с усилением активности реполяризационных калиевых токов, и уменьшением активности кальциевого тока L-типа.

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИОКАРДИАЛЬНОЙ ТКАНИ ПОЛЫХ ВЕН В ХОДЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА И НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЕЁ РЕГУЛЯЦИИ

Иванова А.Д.¹, Кузьмин В.С.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

В настоящее время миокардиальную ткань торакальных (полых и легочных) вен рассматривают в качестве основного источника биоэлектрической активности, которая служит причиной возникновения предсердных аритмий. Изучению особенностей биоэлектрической активности миокарда полых вен (ПВ) уделено значительно меньше внимания, чем легочным, хотя и было продемонстрировано, что миокардиальная ткань полых вен, также как и легочных, может являться источником эктопической биоэлектрической активности, приводящей возникновению фибрилляции предсердий (ФП).

Формирование экстракардиального миокарда торакальных вен неразрывно связано с развитием рабочего и пейсмекерного миокарда предсердий. Существует предположение, что аритмогенные свойства миокардиальной ткани торакальных вен связаны с происхождением, развитием и преобразованием этой ткани в ходе пре- и постнатального онтогенеза, а также с развитием ее нервной регуляции. Тем не менее, особенности преобразования электрической активности миокардиальной ткани торакальных вен в ходе онтогенеза изучены слабо, а сведения о электрофизиологии миокарда полых вен на разных этапах раннего развития практически полностью отсутствуют.

В данной работе были изучены биоэлектрические свойства миокардиальной ткани правой поллой вены (ППВ) крысы на разных этапах постнатального онтогенеза. В работе использовали электрофизиологические и молекулярные методы, такие как стандартная микроэлектродная техника, оптическое картирование, иммуногистохимическое окрашивание, ПЦР в реальном времени, а также химическая десимпатизация. Эксперименты проводили с использованием препаратов ППВ самцов крыс Wistar возраста 7, 14, 21 и 60 дней.

В работе было показано, что с увеличением возраста животного миокард ППВ приобретает свойства, характерные для рабочего миокарда предсердий. Характерная для ППВ неонатальных крыс спонтанная биоэлектрическая активность исчезает в ППВ у взрослых крыс. Норадреналин, фенилэфрин и изопротеренол вызывают спонтанную активность в миокарде поллой вены, но способность агонистов адренорецепторов индуцировать спонтанную активность значительно меняется в ходе постнатального онтогенеза. При этом, нами установлено, что симпатическая иннервация миокарда поллой вены формируется в ходе постнатального развития, и кроме того, изменяется количество α - и β -адренорецепторов в этой ткани. Скорость проведения возбуждения в миокарде ППВ у неонатальных крыс значительно ниже таковой у взрослых, хотя и белок щелевых контактов коннексин 43 (Cx43), обеспечивающий высокую проводимость в рабочем миокарде предсердий, присутствует уже в ППВ неонатальных крыс. Кроме того, установлено, что уровень экспрессии генов HCN1,2,4, переносящих пейсмекерный I_f ток, снижается в ходе постнатального онтогенеза в миокарде ППВ вен. Экспрессия генов субъединицы Na/K-атфазы (Atp1a1) в миокарде ППВ взрослых крыс снижена, что, возможно, обеспечивает нестабильность уровня потенциала покоя в миокарде ППВ.

Таким образом, нами было показано, что миокард ППВ проявляет пейсмекерные свойства в неонатальном возрасте, но утрачивает их в ходе постнатального онтогенеза. Возможно, изменение биоэлектрических свойств ППВ связано с так называемым процессом атриализации, при котором кардиомиоциты структур-наследников венозного синуса приобретают фенотип рабочего миокарда, что обеспечивает более низкую аритмогенность ППВ по сравнению с легочными венами. Можно предположить, что эктопическая спонтанная активность, инициирующая ФП, возникает в миокарде ППВ с случае нарушения атриализации

этой ткани на ранних этапах постнатального онтогенеза, а также при патологических состояниях во взрослом возрасте.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00253.

БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОПАТИЙ ПРИ АРИТМОГЕННЫХ МУТАЦИЯХ В SCN5A

Карпушев А.В.

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

Ген SCN5A кодирует порообразующую альфа-субъединицу сердечной изоформы потенциал-зависимого натриевого канала $Na_v1.5$. Этот ионный канал опосредует быстрый входящий натриевый ток I_{Na} , являющийся основным компонентом в фазе быстрой деполяризации (фаза 0) при генерации и проведении потенциала действия (ПД) в миокарде [1]. Генетические варианты SCN5A вовлечены в ряд наследственных сердечных каналопатий включая синдром Бругада (BrS), синдром удлиненного интервала QT третьего типа (LQT3), дисфункция проводящей системы сердца и др.

С BrS связаны мутации в SCN5A, приводящие к потере или снижению функции ионного канала (loss-of-function), т.е. к исчезновению или уменьшению I_{Na} . Это может быть вызвано нарушением доставки $Na_v1.5$ на клеточную мембрану и уменьшением экспрессии канала на клеточной поверхности и/или с изменением свойств воротных механизмов канала, что приводит к смещению потенциал-зависимости активации (позитивный сдвиг) или инактивации (негативный сдвиг), ускорению инактивации или замедлению восстановления после инактивации [2]. Лежащие в основе LQT3 мутации в SCN5A, обычно являются усиливающими функцию канала (gain-of-function), вызывают замедление инактивации I_{Na} , увеличение позднего I_{Na} или window I_{Na} , что в конечном итоге сопряжено с удлинением ПД [2]. При фибрилляции предсердий обнаруживаются оба типа мутаций в SCN5A, loss-of-function и gain-of-function. Усиление функции может быть связано со сдвигом потенциал-зависимости активации в сторону гиперполяризации или сдвигом инактивации в сторону деполяризации, замедлением инактивации I_{Na} или ускорением восстановления после инактивации. Снижение функции может быть следствием уменьшения пиковой плотности I_{Na} или отрицательного сдвига потенциал-зависимости инактивации [3]. Также оба типа мутаций в SCN5A были обнаружены у пациентов с синдромом слабости синусового узла (СУ) [4]. Уменьшение пиковой плотности I_{Na} в клетках СУ приводит к блоку выхода из СУ. Увеличение плотности позднего I_{Na} удлиняет ПД и весь сердечный цикл в целом и таким образом замедляет пейсмейкерную активность СУ. Кроме того мутации в SCN5A, характеризующиеся изменениями биофизических параметров I_{Na} идентифицируются при атриовентрикулярной блокаде и прогрессирующем замедлении сердечной проводимости в системе Гис-Пуркинье (болезнь Лева-Ленегра), синдроме внезапной детской смерти, дилатационной кардиомиопатии, аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка [5]. Особым случаем являются так называемые синдромы перекрытия (overlap syndromes), симптомы как LQT3, так и BrS могут быть обусловлены присутствием одной и той же мутацией в SCN5A. В то время как удлинение интервала QT вызвано увеличенным позднего I_{Na} , BrS является результатом позитивного смещения активации, негативного смещения инактивации и более медленного восстановления после инактивации ионного канала.

Исследование молекулярных и биофизических механизмов, лежащих в основе натриевых каналопатий ведется с использованием метода patch-clamp и реконструкции мутантных форм $Na_v1.5$ в гетерологических системах экспрессии, клеточных линиях CHO-K1 или HEK293.

Список литературы.

1. Aronsen J.M., Swift F., Sejersted O.M. // J. Mol. Cell. Cardiol. 2013. V.61. P.11–19.

2. Tan H.L., Bezzina C.R., Smits J.P., Verkerk A.O., Wilde A.A.M. // *Cardiovasc Res.* 2003. V.57. P.961–73.
3. Lieve K.V., Verkerk A.O., Podliesna S., van der Werf C., Tanck M.W., Hofman N., et al. // *Int J Cardiol.* 2017. V.236. P.187–93.
4. Hayashi H., Sumiyoshi M., Nakazato Y., Daida H. // *J Arrhythmia.* 2018. V.34. P.216–221.
5. Merregalli P.G., Wilde A.A.M., Tan H.L. // *Cardiovasc Res.* 2005. V.67. P.367–78.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА Ki-67 В МЕЖПРЕДСЕРДНОЙ ПЕРЕГОРОДКЕ КРЫСЫ

Малолина Е.А.¹, Пустовит К.Б.^{2,3}

¹*Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

²*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

³*Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

В ходе эмбрионального развития сердце проходит ряд последовательных стадий. В процессе преобразований можно выделить «первичный миокард», который характеризуется медленной скоростью проведения волны возбуждения в кардиомиоцитах, низкой сократимостью и способностью к спонтанной деполяризации [1, 2], а также «вторичный миокард» - из него состоят будущие желудочки и предсердия [3]. Несмотря на то, что первичный миокард в основном преобразуется во вторичный, он сохраняется в синоатриальном и атриовентрикулярном узлах, способных к генерации потенциалов действия (ПД). Также во взрослом сердце сохраняется ряд других участков первичного (эмбрионального) миокарда, в которых возможно возникновение спонтанной активности, сходной с активностью пейсмекеров сердца. Одним из таких участков является межпредсердная перегородка (МПП) [4]. Остаются актуальными вопросы сохранения признаков эмбрионального фенотипа в МПП, а также выяснение пролиферативного потенциала ткани перегородки у взрослых животных. На сегодняшний день известно несколько маркеров пролиферации клеток, одним из которых является экспрессия гена Ki-67 [5]. Таким образом, целью данной работы является определение уровня экспрессии гена Ki-67 в МПП новорожденных и взрослых крыс.

Экспрессию гена Ki-67 в сердце крыс стока Wistar возраста 1-2 дня постнатального развития (новорожденные) ($n=10$) изучали в сравнении с показателями взрослых крыс (60 дней) ($n=15$). В работе исследовали образцы миокарда МПП и предсердного миокарда. Уровни экспрессии гена Ki-67 определяли относительно показателей экспрессии гена β -актина методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РВ-ПЦР), проведенной на установке Multicolor Real-Time PCR Detection System iQ5 (BioRad, Германия). Расчет относительной экспрессии проводили на основании сравнительной оценки величин Ct (threshold cycle), получаемых после проведения ПЦР реакции. Для сравнения уровней экспрессии мРНК использовали метод “дельта–дельта Си-ти” ($\Delta\Delta Ct$). Полученные результаты обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, USA) с использованием One-Way ANOVA.

Полученные данные показывают, что у животных на ранних этапах постнатального развития наблюдается экспрессия м-РНК исследуемого гена, особенно высокие значения в МПП новорожденных. Согласно полученным результатам, у взрослых животных сохраняется экспрессия гена в перегородке, тогда как в предсердии показатели сравнительно не велики. Данные результаты могут свидетельствовать о возможном сохранении эмбрионального фенотипа в ткани МПП взрослых животных, что также подтверждается экспериментами с регистрацией спонтанных ПД в МПП в научной группе. Выявление маркера Ki-67 в препарате МПП взрослых животных также говорит в пользу сохранения пролиферативного потенциала, что вносит существенный вклад в развитие представлений о клеточных технологиях восстановительных процессов сердечной мышцы при различных повреждениях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00696.

Список литературы.

1. Moorman A.F.M., Christoffels V.M. // *Int. J. Cardiol.* 2003. V.83(4). P.1223-1267.
2. Yanni J., Tellez J.O., Sutyagin P.V. et al // *Mol Cell Cardiol.* 2010. V.48(4). P.653-662.
3. Kelly R.G., Buckingham M.E. // *Trends Genet.* 2002. V.18(4). P.210-216.
4. Moorman A.F.M., Jong F.De. // *Int. J. Cardiol.* 2005. V.125. P.1115-1121.
5. Sun X., Kaufman P.D. // *Chromosoma.* 2018. V.127(2). P.175-186.

**БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМОГО
НАТРИЕВОГО КАНАЛА $Na_v1.5$ С АМИНОКИСЛОТНЫМИ ЗАМЕНАМИ,
АССОЦИИРОВАННЫМИ С СИНДРОМОМ БРУГАДА**

Михайлова В.Б., Карпушев А.В.

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

Сердечно-сосудистые заболевания являются наиболее распространенной причиной смерти во всем мире, в том числе внезапной смерти вследствие сердечной аритмии. С различными аритмогенными синдромами, такими как синдром удлиненного интервала QT третьего типа (LQT3), синдром Бругада, идиопатическая вентрикулярная фибрилляция [1], ухудшенное предсердно-желудочковое проведение [2], прогрессивный сердечный дефект проведения через систему Гиса-Пуркинье [3] и синдром слабости синусового узла [4] связана дисфункция потенциал-зависимого натриевого канала $Na_v1.5$. Натриевый канал $Na_v1.5$ играет ключевую роль в генерации и проведении потенциала действия в миокарде [5].

Целью настоящего проекта являлось изучение биофизических характеристик альфа-субъединицы потенциал-зависимого натриевого канала $Na_v1.5$, несущей аминокислотные замены V281A, F543L, K1419E или L1582P, ассоциированные с клиническим фенотипом синдрома Бругада.

Работа была выполнена на клетках линии CHO-K1 (Chinese Hamster Ovary cells) – иммортализованной линии эпителиальных клеток яичников китайского хомячка *Cricetulus griseus*. Гетерологическая экспрессионная система клеток CHO-K1 обеспечивала реконструкцию функционально активных натриевых каналов на клеточной поверхности. Натриевый ток I_{Na} регистрировался методом локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации whole cell («целая клетка»). Используя различные протоколы подачи тестирующих стимулов были получены записи I_{Na} для анализа следующих биофизических характеристик: плотность I_{Na} (вольт-амперная характеристика), зависимость от мембранного потенциала стационарных активации и инактивации (потенциал достижения половины максимального значения проводимости или амплитуды тока $V_{1/2}$ и наклон кривой k), восстановление из быстрой и медленной инактивации (постоянные времени), развитие медленной инактивации. Плотность I_{Na} рассчитывалась как отношение амплитуды тока к электрической емкости клетки. Нормированные значения проводимости и амплитуды тока аппроксимировались уравнениями функции Больцмана для построения кривых стационарной активации и инактивации.

Аминокислотные замены V281A, K1419E и L1582P приводили к исчезновению входящего I_{Na} . Инкубация в присутствии мексилетина (48 часов, 500 мкМ) или норадреналина (1-3 часа, 10 мкМ) не восстанавливала I_{Na} .

Мутация F543L не вызывала изменений в плотности I_{Na} , потенциал-зависимости стационарных активации и инактивации I_{Na} , однако наблюдался достоверный сдвиг кривой быстрой инактивации в сторону гиперполяризации ($V_{1/2}$ для F543L и дикого типа составляли соответственно $-53,7 \pm 0,9$ мВ и $-51,4 \pm 0,6$ мВ, $p=0,05$), при этом медленная составляющая инактивации достоверно не изменялась. В параметрах развития медленной инактивации и

выхода из состояния быстрой или медленной инактивации также не наблюдалось достоверных изменений.

Таким образом, функционально активный $Na_v1.5$ электрофизиологически не определялся при аминокислотных заменах V281A, K1419E и L1582P, замена F543L приводила к некоторому снижению активности натриевого канала.

Список литературы.

1. Moric E., Herbert E. et al. // *Europace*. 2003. V.5. P.325-34.
2. Wilde A.A., Antzelevitch C., et al. // *Circulation*. 2002. V.106. P.2514-9.
3. Wang D.W., Viswanathan P.C. et al. // *Circulation*. 2002. V.105. P.341-6.
4. Schott J.J., Alshinawi C. et al. // *Nat Genet*. 1999. V.23. P.20-1.
5. Zimmer T., Haufe V., Blechschmidt S. // *Glob Cardiol Sci Pract*. 2014. V.2014. P.4449-63.

ЭКСПРЕССИЯ КАНАЛОВ HCN1/2/4 В МИОКАРДИАЛЬНОЙ ТКАНИ ТОРАКАЛЬНЫХ ВЕН НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Филатова Т.С.¹, Иванова А.Д.¹, Кузьмин В.С.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Миокардиальные рукава легочных и полых вен являются источниками эктопической биоэлектрической активности, которая инициирует возникновение предсердных аритмий. Известно, что предшественники кардиомиоцитов полых вен обладают пейсмекерными свойствами, в то время как кардиомиоциты легочных вен приобретают таковые в ходе постнатального онтогенеза. Аритмогенность миокарда торакальных вен может быть связана с уровнем экспрессии каналов тока I_f , который обеспечивает спонтанную деполяризацию в пейсмекерных кардиомиоцитах. В данной работе был исследован уровень транскрипции каналов HCN1,2,4, которые переносят пейсмекерный I_f ток, в миокардиальной ткани полых и легочных вен, а также в рабочем миокарде левого предсердия крыс неонатального и зрелого возраста.

В эксперименте использовали крыс стока Wistar возраста 7 (неонатальные), 60 (взрослые) и 365 (старые) дней. Для определения уровня транскрипции генов HCN1,2,4 при помощи метода ПЦР в реальном времени тотальную мРНК выделяли из образцов миокардиальной ткани правой поллой вены (ППВ), легочной вены (ЛВ) и стенки левого предсердия (ЛП). В качестве эндогенного контроля использовали ген гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (HPRT), уровень экспрессии которого не различался среди различных участков миокарда.

Уровень экспрессии генов HCN1,2,4 был наибольшим во всех участках миокарда у неонатальных крыс и снижался по мере увеличения возраста. Уровень экспрессии гена HCN4 было наибольшим в ЛП у неонатальных крыс по сравнению в ППВ ($p=0.0002$) и ЛП ($p=0.0089$), а также значительно снизился с увеличением возраста животного ($p=0.0005$ и $p=0.0001$ по сравнению с возрастом 60 и 365 дней, соответственно). Уровень экспрессии HCN2 был значительно больше в ЛВ в возрасте 60 дней по сравнению с ЛП ($p=0.0136$), и значительно снизился у старых крыс ($p=0.0027$ по сравнению с ЛВ неонатальных крыс). Уровень экспрессии HCN1 был выше в ППВ по сравнению с ЛП ($p=0.01$) у неонатальных крыс и снизился у старых крыс ($p=0.0106$ по сравнению с ППВ неонатальных крыс), а также значительно снизился в ЛВ по мере увеличения возраста ($p=0.0025$ и $p=0.0009$ в ЛВ по сравнению с возрастом 60 и 365 дней, соответственно).

В данной работе показано, что уровень экспрессии генов HCN1,2,4, снижается в ходе постнатального онтогенеза в миокардиальных рукавах торакальных вен. Снижение уровня экспрессии всех генов каналов пейсмекерного тока I_f согласуется с известными изменениями уровня транскрипционных факторов, которые обуславливают переход электрофизиологического фенотипа кардиомиоцитов с пейсмекерного на «рабочий» в ходе

так называемого процесса атриализации ЛП и ППВ. В миокарде ЛВ также происходит снижение экспрессии генов каналов тока I_f у старых крыс. Полученные данные демонстрируют, что уровень экспрессии генов каналов пейсмекерного тока I_f в миокардиальных рукавах полых и легочных вен не превышает таковой в рабочем миокарде левого предсердия. Таким образом, в данной работе показано, что по крайней мере в ходе нормального развития уровень экспрессии каналов тока I_f в торакальных венах является низким и недостаточным для проявления эктопической пейсмекерной активности.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00253.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ J-ВОЛНЫ ЭКГ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Цветкова А.С.

Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, Республика Коми, Россия

Введение. J-волна, возникающая на ЭКГ при остром инфаркте миокарда, является предиктором фибрилляции желудочков. Ранее была установлена ассоциация между задержкой активации в ишемизированном миокарде и генерацией J-волны. Цель данного исследования – изучить в экспериментальной модели ишемии миокарда связь между появлением J-волны на поверхностной ЭКГ и изменением длительности реполяризации миокарда желудочков.

Методы. На 22 анестезированных свиньях производили одновременную регистрацию поверхностной ЭКГ (всего 18 модифицированных и стандартных отведений) и интрамуральных униполярных электрограмм (48 отведений). Гибкие интрамуральные электроды устанавливали в свободную стенку левого и правого желудочков и межжелудочковую перегородку (МЖП) на уровне оснований, средней части и верхушек желудочков. Ишемию миокарда вызывали с помощью лигирования левой передней нисходящей артерии (ЛПНА, n=14) и правой коронарной артерии (ПКА, n=8). ЭКГ регистрировали в исходном состоянии, затем на 1-й, 2,5-й, 5-й, 10-й, и затем через каждые 5 минут до 40-й минуты коронарной окклюзии. В униполярных миокардиальных электрограммах определяли локальное время активации (LAT, local activation time, dV/dt_{min} в период QRS комплекса) и длительности интервалов активация-реполяризация (ARI, activation-repolarization intervals, dV/dt_{max} в период T волны – dV/dt_{min} в период QRS комплекса). В отведениях от поверхности тела наблюдали наличие J-волны.

Результаты. При окклюзии ЛПНА и ПКА J-волна возникала соответственно в левых (у 11 из 14 свиней) и правых (у 6 из 8 свиней) прекардиальных отведениях. Как и ожидалось, LAT увеличивается при окклюзии ЛПНА и ПКА и является предиктором появления J-волны на поверхностной ЭКГ (OR=1.09 95% CI 1.05-1.13; $p<0.001$). При окклюзии как ЛПНА, так и ПКА наиболее длительные ARI обнаружены в неишемизированном миокарде (305 ± 64 мс и 299 ± 64 мс соответственно), а наиболее короткие – в ишемизированной части желудочков: МЖП при окклюзии ЛПНА (118 ± 48 мс, 40-ая мин, $p<0.001$) и латеральной части основания правого желудочка при окклюзии ПКА (220 ± 72 мс, 40-ая мин, $p>0.05$). В модели множественной логистической регрессии показано, что наряду с задержкой активации разность между максимальными ARI и ARI в области ишемии является независимым предиктором появления J-волны на ЭКГ (OR=1.02 95% CI 1.01-1.03; $p<0.001$) при коронарной окклюзии обеих локализаций.

Заключение. Задержка активации в зоне ишемии и возникновение градиента длительности реполяризации между нормальным и ишемизированным миокардом являются независимыми предикторами появления J-волны поверхностной ЭКГ.

Работа выполнена в рамках Программы ФНИ на 2017-2020 гг. (№ ГР АААА-А17-117012310154-6).

СЕКЦИЯ «МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА СОСУДОВ»

ЛЁГОЧНАЯ АРТЕРИАЛЬНАЯ ГИПЕРТЕНЗИЯ ПРИВОДИТ К ИЗМЕНЕНИЯМ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ НА ВАЗОКОНСТРИКТОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ В БОЛЬШОМ КРУГЕ КРОВООБРАЩЕНИЯ

Абрамов А.А., Лакомкин В.Л., Лукошкова Е.В., Кузьмин В.С., Капелько В.И.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
ФГБУ НМИЦ Кардиологии МЗ РФ, Москва, Россия*

Введение.

Лёгочная артериальная гипертензия (ЛАГ) – жизнеугрожающая патология, сопровождающаяся подъёмом давления в малом круге и гипертрофией правого желудочка, при которой показана активация симпатической нервной системы и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [4]. Облегчение симптомов ЛАГ наблюдается в случаях денервации лёгочной [1] и почечной артерий [3], а также при терапии ЛАГ блокатором ацетилхолинэстеразы пиростигмином и различными адреноблокаторами [4]. С развитием ЛАГ также меняется экспрессия ангиотензин-превращающего фермента и в 2 раза вырастает экспрессия рецептора к ангиотензину первого типа [2]. В связи с этим представляет интерес изменение сосудистых реакций большого круга кровообращения, а также изменение его рефлекторной регуляции при развитии ЛАГ.

Методы.

Белым крысам линии Wistar вживляли 3 полиуретановых катетера (один в сонную артерию, остальные в яремную вену), выводили на холку и подключали к имплантированному порту сосудистого доступа (Instech Salomon VAB). После недели адаптации у крыс выполняли хронический протокол: регистрировали среднее артериальное давление (САД) и ЧСС прямым методом при введении пяти возрастающих доз нитропруссид натрия (SNP) – 5,10,20,40,80 мкг/кг, и фенилэфрина (Phe) – 2,4,8,16,32 мкг/кг, затем проводили 2 трёхминутные инфузии SNP и Phe с линейно нарастающей скоростью введения (RAMP). Диапазон скоростей подбирали таким образом, чтобы кривая среднего АД вышла на плато. После этого давали атропин и производили RAMP на фоне атропина (1 мг/кг), а после этого повторяли введение доз SNP и Phe на фоне двойной артериальной блокады (ДБ) (атропин (1 мг/кг)+атенолол (2 мг/кг)). Хронический протокол целиком повторяли на фоне инфузии ангиотензина (АТ2) (100-150 нг/кг/мин) через сутки.

Правый желудочек и малый круг кровообращения исследовали с помощью УЗИ (ViewSonic VEVO 1100) при этом измеряли толщину стенки правого желудочка, амплитуду движения стенки правого желудочка в районе трикуспидального клапана (TAPSE), и поток в лёгочной артерии (АТ/ЕТ). Изменение потока дополнительно исследовалось на ангиотензиновой и гипоксической функциональных пробах.

После начального тестирования у крыс вызывали ЛАГ монокроталином (МКТ) (60 мг/кг) и повторяли измерения на 2 и 4 неделю после введения МКТ.

Результаты.

По данным УЗИ толщина стенки правого желудочка достоверно увеличивается с $0,58 \pm 0,02$ мм до $0,72 \pm 0,06$ мм уже на вторую неделю от введения МКТ далее меняясь незначительно, тогда как диаметр выносящего тракта ПЖ достоверно увеличивается только на четвёртую неделю от введения МКТ с $2,67 \pm 0,07$ мм до $3,62 \pm 0,08$ мм. При этом показатель TAPSE, который интерпретируется как сократимость правого желудочка, достоверно снижается на вторую неделю с $1,46 \pm 0,04$ мм до $1,08 \pm 0,06$ мм синхронно с нарастанием гипертрофии и далее не меняясь. Наряду с изменениями в малом круге происходят изменения гемодинамических реакций большого круга, которые, главным образом затрагивают реакцию на вазоконстрикторы – Phe и АТ2. Так, у здоровых крыс на фоне ДБ достоверно отличается реакция САД на большие дозы Phe (32 мкг/кг) в норме и при одновременной инфузии АТ2 по трём показателям – амплитуде пика САД сразу после введения, площади под кривой пика САД

и длительности реакции, измеренной на уровне 50% амплитуды пика САД (Таблица 1), в то время как после введения МКТ эти различия становятся меньше и достоверность исчезает.

Таблица 1. Изменение параметров пика САД в ответ на болюсное введение Phe (32 мкг/кг) на фоне ДБ, мм. рт. ст. Данные представлены, как (M±SEM). * - p < 0,05

		До МКТ (n=8) *	Вторая неделя после МКТ (n=6)	Четвёртая неделя после МКТ (n=3)
Амплитуда, мм рт. ст.		79,33±3,46	83,85±6,35	72,78±4,72
	Инфузия АТ2	55,09±9,9	61,48±10,02	68,12±7,08
Площадь под пиком, мм рт. ст. × с		16475,5±2565, 1	9937,8±2832,8	12525±7660,9
	Инфузия АТ2	6161,6±1559,1	5348,9±1809,9	7087±2705,9
Длительность пика на уровне 50% амплитуды, с		176,5±30	92,4±22,75	57,3±34,6
	Инфузия АТ2	84,7±16	54,67±27,3	40±7,57

Выводы.

С развитием ЛАГ функциональные и морфологические изменения в малом круге кровообращения сопровождаются уменьшением разницы в ответах на фенилэфрин в большом круге кровообращения на фоне ДБ между опытами с инфузией АТ2 и без неё.

Список литературы.

1. Chen S.-L. et al. Hemodynamic, Functional, and Clinical Responses to Pulmonary Artery Denervation in Patients With Pulmonary Arterial Hypertension of Different Causes // *Circulation. Cardiovascular Interventions*. 2015. V.8(11). P. e002837.
2. Man F.S. de et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012. V.186(8). P. 780–789.
3. Silva Gonçalves Bos D. da et al. // *JACC. Basic to translational science*. 2017. V.2(1). P. 22–35.
4. Vaillancourt M. et al. // *Respiratory Research*. 2017. V.18(1). P. 201

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ НА СЕНСОРНО-МОТОРНУЮ ФУНКЦИЮ МЫШЕЙ

Арсланова А.Н., Тарасова А.С., Александрова А.Ю., Новоселова В.А., Яруллина Д.Р., Яковлева О.В.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Кишечная микрофлора – это сообщество бактерий, которые помогают поддерживать динамическое и метаболическое равновесие в организме. [1] Изменение микробиоты нарушает функционирование иммунной системы и способствует различным заболеваниям. Состав микрофлоры изменяется при таких заболеваниях, как депрессия, синдром раздражённого кишечника и аутизм. [2] Относительное изобилие и разнообразие микробиоты существенно влияет на развитие мозга.

Целью данного исследования было сравнение сенсорно-моторной функции мышеч в контроле и при изменённой микробиоте.

Объектом исследования были мыши в возрасте 20-25 дня жизни. Мыши были разделены на 3 группы: 1) контрольная группа, получавшая инъекции физиологического раствора (К, n=10); 2) группа мышеч, получавших инъекции антибиотиков (АБ, n=10); 3) группа мышеч, получавших инъекции антибиотиков и с добавлением в питьевую воду лактобацилл (АБ+ЛБ, n=10). Внутривентрикулярные инъекции антибиотиков (коктейль из неомицина, ванкомицина, амфотерицина В, ампициллина, метронидазола) и добавление лактобацилл в питьевую воду

($4 \cdot 10^6$ кл/мл) проводили в течении 2-х недель.

Для оценки функций мышечной системы мышей использовали тесты: «Открытое поле», где подсчитывали горизонтальную и вертикальную двигательную активность (ГДА и ВДА), и «Ротарод», характеризующий координацию движений и выносливость животного. Тесты проводились до начала и сразу после окончания курса инъекций. Статистический анализ проводился с помощью непараметрического теста Kruskal-Wallis ANOVA.

Результаты. У мышей АБ группы наблюдалось увеличение ГДА ($166,1 \pm 53,3$ о.е.) по сравнению с начальными значениями ($128,0 \pm 14,7$), контрольной ($121,3 \pm 11,6$) и АБ+ЛБ группами ($106,9 \pm 13,9$). ВДА в АБ группе ($10,4 \pm 2,4$ о.е.) была ниже по сравнению с начальными значениями ($12,5 \pm 1,7$), контрольной ($11,2 \pm 2,8$) и АБ+ЛБ группами ($13,7 \pm 3,0$). Время пребывания на вращающемся цилиндре в тесте «Ротарод» увеличивалось во всех группах относительно начальных значений: Контроль – $70,8 \pm 24,2$ с, АБ – $61,0 \pm 23,2$ с, АБ+ЛБ – $65,6 \pm 23,0$ с). В группе АБ в конце курса инъекций время пребывания на вращающемся цилиндре было ниже ($83,6 \pm 23,9$ с), чем в контрольной и АБ+ЛБ группах ($100,5 \pm 24,4$ и $101,3 \pm 16,8$ с, соответственно).

Выводы. Таким образом, нарушение нормальной микробиоты кишечника при введении антибиотиков ведёт к снижению выносливости и нарушению координации движений у мышей в тесте «Ротарод». При этом наблюдается увеличение горизонтальной двигательной активности и не изменяется вертикальная двигательная активность животных. Одновременное введение лактобацилл и инъекций антибиотиков предотвращало наблюдаемые изменения, что свидетельствует о положительном эффекте нормальной микрофлоры на сенсорно-моторную функцию мышей.

Список литературы.

1. Hong-Xing Wang, Yu-Ping Wang. // Chinese Medical Journal. 2016, V.129(19).
2. Barrera-Bugueno C., Realini O., Escobar-Luna J. et al. // Neuroscience. 2017. V.359. P. 18-29.

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНТЕРАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Аряева Д.А., Вишнякова П.А.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Актуальность. Нейроны интрамуральных ганглиев кишки существенно варьируют по своим иммуногистохимическим характеристикам [1]. В постнатальном онтогенезе в автономной нервной системе происходит изменение нейрохимического состава [2, 3].

Целью исследования явилось изучение иммуногистохимических характеристик ганглиев тонкой и толстой кишки в постнатальном онтогенезе.

Методы исследования. Исследовались ганглии тонкой и толстой кишки крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние) при помощи иммуногистохимического метода двойного мечения антителами с последующей флуоресцентной микроскопией. Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

Результаты. Нейроны интрамуральных ганглиев кишки существенно варьируют по своим иммуногистохимическим характеристикам. В постнатальном онтогенезе в интрамуральных узлах происходит изменение нейрохимического состава.

Уже с момента рождения основная часть ганглионарных нейронов метасимпатической системы является холинергической и содержит фермент синтеза ацетилхолина – холинацетилтрансферазу (ХАТ). Наряду с холинергическими нейронами, в интрамуральных ганглиях крыс различных возрастных групп выявлены нейроны, содержащие другие нейротрансмиттеры, в том числе нейропептид Y (НПУ) и синтазу оксида азота (НОС), а также различные кальций-связывающие белки, включая кальбиндин (КБ) массой 28 кДа и

кальретинин (КР). В онтогенезе процент НПУ-позитивных нейронов достоверно увеличивается в подслизистом сплетении. Процент НОС-позитивных нейронов достоверно уменьшается в первые 10 суток жизни крыс. КБ и КР-иммунореактивные (ИР) нейроны выявлялись у всех исследованных крыс от новорожденных до старых. В межмышечном сплетении процент КБ-ИР и КР-ИР нейронов достоверно увеличивался в первые 10 суток жизни, и далее не изменялся. В подслизистом сплетении у новорожденных крысят КБ не выявлялся, КР обнаруживался в $72,0 \pm 2,52\%$ нейронов. В онтогенезе процент КБ-ИР и КР-ИР нейронов в подслизистом сплетении достоверно увеличивался с 30 суток до 2 месяцев и далее не изменялся. У старых крыс нейрохимические характеристики достоверно не менялись по отношению к взрослым.

Выводы. В раннем постнатальном онтогенезе происходят разнонаправленные изменения нейрохимического состава энтеральных метасимпатических нейронов.

Список литературы.

1. Маслюков П.М., Будник А.Ф., Ноздрачев А.Д. // Успехи геронтологии. 2017. Т.30(3). С.347-355.
2. Маслюков П.М., Емануйлов А.И., Ноздрачев А.Д. // Успехи геронтологии. 2016. Т.29(3). С.442-453.
3. Masliukov P.M., Moiseev K., Budnik A.F., Nozdrachev A.D., Timmermans J.-P. // Cell Mol. Neurobiol. 2017. V.37(7). P.1257–1267.

СТАРЕНИЕ НА КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ: ИЗМЕНЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Войнова Е.С., Тюрин-Кузьмин П.А.

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

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются стволовыми клетками взрослого организма, располагающиеся периваскулярно в строме большинства тканей и органов. Они представляют большой интерес для современной науки в связи с их потенциальным использованием в регенеративной медицине. В качестве перспективных направлений рассматриваются, с одной стороны, их применение для аутологичной трансплантации, с другой – стимуляция эндогенных механизмов репарации и регенерации поврежденных тканей за счет регуляции МСК. Как стволовые клетки, они обладают способностью к самообновлению и дифференцировке - процессов, от которых зависит размер популяции МСК и ее регенеративный потенциал на протяжении жизни человека. Старение популяции стволовых клеток влияет как на пролиферативные свойства МСК, так и на их способность к дифференцировке. В качестве моделей стареющих МСК используются клетки, выделенные из доноров разного возраста, а также продолжительное пассирование клеток в культуре. Ранее было показано, что так называемое «время удвоения» популяции как на ранних, так и на поздних пассажах выше у пожилых доноров. Более того, этот параметр значительно увеличивается с каждым последующим пассажем [1]. Кроме того, отмечается снижение мультипотентности дифференцировки и проявление признаков репликативного старения [2-4]. Морфологическим маркером старения МСК считается увеличение их размеров и изменение формы. При этом клетки от пожилых доноров уже изначально не показывают морфологию веретенообразных (молодых) МСК в культуре, в то время как клетки от молодых доноров обладают данным признаком, постепенно утрачивая его в течение времени культивирования [4, 5].

Целью нашего исследования являлось выяснение того, как пролиферативная активность и дифференцировочный потенциал изменяется в процессе старения МСК жировой ткани человека. Нами была измерена митотическая активность и эффективность адипогенной

дифференцировки МСК в зависимости от возраста донора, при разной плотности посадки и на разных пассажах. Все изучаемые процессы наблюдались в режиме реального времени и на уровне одиночных клеток, что в совокупности с довольно большим статистическим объемом данных позволило говорить о высоком уровне достоверности результатов.

В процессе исследования нам удалось выяснить, что при одинаковом пассаже клетки, высаженные в большей плотности, существенно эффективнее переходят в адипогенную дифференцировку. Данное наблюдение подтверждалось для клеток как пожилых, так и молодых доноров. Вероятнее всего, данный эффект объясняется паракринными факторами, секретлируемыми МСК. Кроме этого, нами была выявлена прямая зависимость дифференцировочного потенциала от номера пассажа культивируемых МСК. Так, по мере пассирования данный показатель возрастал в 4-5 раз. Эти данные позволяют говорить о том, что при старении МСК в большей степени подвержены адипогенной дифференцировке, что может быть связано с тем, что они выходят из состояния стволовости и коммитируются в направлении дифференцировки.

Таким образом, в данной работе был выявлен ряд закономерностей и особенностей изменения МСК в процессе их старения, понимание которых необходимо для контролируемого использования этих клеток в регенеративной медицине.

Список литературы.

1. Gruber H.E., S. Somayaji, F. Riley et al. // J. Biotech Histochem. 2012. V.40(11). P.773-781.
2. Fehrer C., Günter Lepperdinger // J. Experimental gerontology. 2005. V.40(12). P.926-930.
3. Lepperdinger G., Reitingner S. // Stem Cell Aging: Mechanisms, Consequences, Rejuvenation. 2015.
4. Sethe S., Scutt A., Stolzing A. // J. Aging research reviews. 2006. V.5(1). P.91-116.
5. Yueh-Hsun Kevin Yang // J. Regenerative therapy. 2018. V.9(1). P.131.

АНТИКОНСТРИКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА ТОНУС АРТЕРИЙ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Гайнуллини Д.К., Софронова С.И., Швецова А.А., Селиванова Е.К., Борзых А.А.,
Мартыанов А.А., Тарасова О.С.

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

Оксид азота NO – один из важнейших сосудорасширительных факторов, синтезируемых эндотелиальными клетками. Известно, что активация эндотелиальных клеток может происходить в ответ на вазоактивные вещества и под действием напряжения сдвига, создаваемого током крови. Также показано, что даже в условиях отсутствия напряжения сдвига и стимуляции агонистами эндотелий может спонтанно секретировать вазодилататорные вещества. В таком случае закономерно утверждать, что эндотелий оказывает антиконстрикторное действие, не связанное с влиянием напряжения сдвига.

С использованием препаратов изолированных сосудов мы показали, что эндотелий за счет тонической продукции NO ослабляет сократительные ответы артерий, оказывая антиконстрикторное влияние, которое сильнее выражено в раннем постнатальном периоде по сравнению со взрослым организмом. Антиконстрикторное влияние NO проявляется вне зависимости от природы сократительного стимула. При этом уменьшение антиконстрикторного влияния NO при взрослении организма не сопровождается ослаблением вызванного агонистом эндотелий-зависимого расслабления артерий.

Такое антиконстрикторное влияние NO в раннем постнатальном периоде регулируется тиреоидными гормонами. Их нехватка в антенатальный/ранний постнатальный период приводит к уменьшению, а избыток – к увеличению антиконстрикторного влияния NO. Тиреоидный дефицит в антенатальный/ранний постнатальный период приводит к нарушению зависимой от NO регуляции тонуса артерий сердца во взрослом возрасте, что выражается в

увеличении уровня базального тонуса и сократительных ответов артерий вследствие исчезновения антиконстрикторного влияния NO. Важно, что это не сопровождается изменениями в эндотелий-зависимом расслаблении сосудов сердца на агонист. И, наконец, мы показали, что нарушения в антиконстрикторном влиянии NO в артериях сердца у взрослых крыс вследствие антенатального/раннего постнатального гипотиреоза могут быть скорректированы в результате произвольной физической тренировки.

СЕРОТОНИН ИНДУЦИРУЕТ ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКУЮ СЕНСИТИЗАЦИЮ АЛЬФА1А-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Иванова А.М., Чечехин В.И., Калинина Н.И., Тюрин-Кузьмин П.А.

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

Ожирение – одна из наиболее серьезных медицинских проблем современности, распространенная повсеместно. По данным ВОЗ 39% взрослого населения во всем мире имеют лишний вес. Повышение веса связано не только с неправильным образом жизни людей, но также является побочным эффектом ряда лекарственных средств. Показано, что антидепрессанты вызывают увеличение веса при их длительном использовании. Ингибиторы обратного захвата серотонина и/или норадреналина являются наиболее распространенными препаратами, относящимися к антидепрессантам. Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина при длительном приеме вызывают статистически достоверное повышение веса тела.

МСК входят в состав соединительной ткани и играют ключевую роль в процессах ее репарации, регенерации и поддержании гомеостаза. Данные клетки способны дифференцироваться в остеобласты, хондробласты и адипоциты. МСК секретируют множество паракринных факторов и тем самым регулируют функции тканей. Ключевыми регуляторами функциональной активности МСК являются серотонин и норадреналин. Ранее мы показали, что норадреналин регулирует функциональную активность МСК, изменяя их чувствительность к норадреналину при помощи феномена гетерологической сенситизации α 1А-адренорецепторов. При стимуляции сигнального пути β -адренорецепторы/Gs-белок/аденилатциклаза/cAMP происходит транзиторное повышение уровня экспрессии α 1А-адренергических рецепторов и их сопряжение с кальций-зависимыми путями передачи внутриклеточного сигнала. Как следствие, через 6 часов после стимуляции МСК норадреналином наблюдается кратковременное (не более 1 суток) повышение чувствительности клеток к этому гормону.

В данной работе мы изучали, как влияют нейромедиаторы, концентрация которых повышается при приеме антидепрессантов, на функциональную активность МСК. Для выяснения механизмов влияния антидепрессантов на жировую ткань мы на первом этапе выяснили, какие изоформы рецепторов норадреналина и серотонина, сопряженные с Gs-белком и синтезом цАМФ, экспрессируются в МСК. Методом ПЦР мы установили, что в МСК экспрессируются мРНК рецепторов серотонина (HTR6, HTR7), и на уровне белка показали, что МСК экспрессируют бета1-, бета2- и бета3-адренорецепторы. Для выяснения потенциала регуляции гормональной чувствительности клеток мы стимулировали МСК серотином или норадреналином и через 6 часов анализировали их чувствительность к норадреналину. Мы установили, что серотонин транзиторно повышает число клеток, отвечающих на норадреналин. Путем вестерн-блоттинга мы установили, что через 6 часов после стимуляции серотином в МСК повышается уровень экспрессии α 1А-адренорецепторов. Также мы показали с помощью ингибиторного анализа и ИФА, что серотонин и норадреналин имеют различные сигнальные механизмы гетерологической сенситизации.

Таким образом, сопряжение адренергических рецепторов с кальциевой сигнализацией за счет повышения уровня экспрессии α 1А-адренорецепторов в МСК при действии серотонина регулируется путем HTR6/Gs-белок/аденилатциклаза/cAMP/PKA/CREB и EPAC. В случае

норадреналина повышение экспрессии $\alpha 1A$ -адренорецепторов не связано с активацией CREB и ERAS.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00421 (ингибиторный анализ и кальциевая сигнализация).

Список литературы.

2. Hasnain M., Vieweg W. V. R., and Hollett B. // Postgrad. Med. 2012. V.124(4). P.154–167.
3. Verhaegen A. and Van Gaal L. F. // J. Endocrinol. Invest. 2017. V.40(11). P.1165–1174.
4. Garfield S. and Heisler L. K. // J. Physiol. 2009. V.587(1). P.49–60.
5. Kalinina N. et al. // Stem Cell Res. Ther. 2015. V.6(1). P.1–12.
6. Tyurin-Kuzmin P. A. et al // Sci. Rep. 2016. V.6. P.1–9.

СИГНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ДЕПО ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Королева А.А.^{1,2}, Мартынов Д.К.¹, Тюрин-Кузьмин П.А.¹, Кулебякин К.Ю.^{1,3}, Созаева Л.С.^{3,4}, Воронцова М.В.^{3,4}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

³МНОЦ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴НМИЦ эндокринологии (ЭНЦ) Минздрава России, Москва, Россия

Паратиреоидный гормон (ПТГ) является ключевым гормоном, регулирующим гомеостаз кальция в организме. При этом ПТГ регулирует формирование кости и остеогенную дифференцировку предшественников остеобластов и мезенхимных стромальных клеток (МСК). МСК являются стволовыми клетками взрослого организма, которые обнаруживаются в строме большинства тканей и органов. МСК расположены вблизи сосудов и морфологически похожи на простые фибробласты. В процессе развития эмбриона группа клеток мигрирует из нервного гребня в периферические ткани. Эти клетки экспрессируют нестин - белок промежуточных филаментов нейтральных стволовых клеток. Часть клеток дифференцируется в нейроны симпатической нервной системы, а другая часть остается одиночными недифференцированными клетками в тканях [1]. Вторая группа клеток и оказывается во взрослом организме МСК. МСК выполняют функции поддержания гомеостаза тканей, паракриной регуляции тканеспецифичных стволовых клеток, а также способны дифференцироваться в кость, хрящ, жир [2]. МСК подвержены строгой нейро-гуморальной регуляции. Они непосредственно контактируют с симпатическими нейронами и, располагаясь периваскулярно, регистрируют гормональный фон организма [3]. ПТГ является одним из ключевых регуляторов МСК. Он регулирует направление МСК в остеогенную дифференцировку, а при нарушениях его рецепции возникает ряд патологий, ассоциированных с возникновением очагов эктопической оссификации. При этом в остеобласты превращаются не все МСК, подверженные действию ПТГ, а лишь часть из них. Остальные сохраняются в состоянии стволовых клеток или же дифференцируются в адипоциты. Мы предположили, что различия в клеточных ответах МСК на действие ПТГ связано с функциональной гетерогенностью этой популяции. Целью данной работы была характеристика субпопуляций МСК по типу кальциевых ответов в ответ на действие ПТГ.

Мы установили, что популяция МСК содержит клетки, отвечающие на ПТГ по-разному. Нами было выделено пять различных типов кальциевых ответов на ПТГ: одиночный ответ в течение первых нескольких минут после стимуляции клеток, одиночный ответ через 30-40 минут после стимуляции, многократные регулярные повышения внутриклеточного уровня кальция (кальциевые осцилляции), многократные нерегулярные кальциевые осцилляции, длительное постепенное повышение уровня кальция. Ряд клеток не отвечал на ПТГ изменением внутриклеточного уровня кальция. Нами были проанализированы МСК,

выделенные из трех различных источников: подкожная жировая ткань из области живота, подкожная жировая ткань из области коленного сустава, МСК из надкостницы костей ноги. Мы обнаружили закономерности распределения функциональных субпопуляций МСК по типам их ответов на ПТГ среди различных тканей организма. Существенная часть клеток, выделенных из надкостницы, отвечала на ПТГ регулярными кальциевыми осцилляциями. При этом некоторые клетки осциллировали и в отсутствие ПТГ, а добавление гормона повышало частоту осцилляций. Медленных длительных кальциевых ответов не наблюдалось. Клетки, выделенные из жира живота, отвечали либо одиночными кальциевыми всплесками, либо медленными кальциевыми цАМФ-зависимыми ответами. Кальциевых осцилляций не было. МСК, выделенные из подкожного жира, расположенного рядом с костью на конечностях, демонстрировали все типы кальциевых ответов. Как мы предполагаем, это связано с тем, что эти клетки представляли собой смесь функциональных субпопуляций МСК. Обнаруженные закономерности в наибольшей степени зависели от места выделения МСК, но не от особенностей донора клеток.

Таким образом, мы обнаружили функциональную гетерогенность мезенхимных стромальных клеток по типам их ответов на паратиреоидный гормон. При этом субпопуляционный состав различался в зависимости от источника выделения клеток. Работа поддержана грантом РФФИ №19-75-30007.

Список литературы.

1. Isern J, Garcia-Garcia A, Martin A.M., et al. // *Elife*. 2014.;V.3. P.e03696.
2. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS // *Cell Tissue Kinet*. 1970. V.4. P.393-403.
3. Kotova PD, Sysoeva VY, Rogachevskaja OA, et al.// *Biochim Biophys Acta*. 2014. V.9. P.1899-908.

НЕЙРОПЕПТИД Y – КОТРАНСМИТТЕР АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ **Маслюков П.М.**

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Нейропептид Y (НПУ) участвует в регуляции различных процессов, включая насыщение, эмоциональное состояние, артериальное давление, гастроинтестинальную секрецию. НПУ играет роль нейротрансмиттера в автономной нервной системе и в большом количестве обнаруживается в волокнах, иннервирующих сердце, коронарные и мозговые артерии, сосуды скелетных мышц и кожи у крысы, кошки, морской свинки, человека. Также НПУ широко распространен и в желудочно-кишечном тракте, в том числе выявляется в волокнах, направляющихся к слизистой и мышечной оболочке, а также гладким мышцам сосудов [1].

В симпатических узлах и интрамуральных узлах сердца у крыс НПУ определяется с момента рождения, при этом в онтогенезе процент НПУ-позитивных нейронов возрастает в течение первого месяца жизни. НПУ-содержащие волокна и нейроны обнаруживаются в миокарде уже с момента рождения. У новорожденных животных плотность НПУ-иммунореактивных волокон является наименьшей и возрастает с момента рождения в течение первых 20 суток жизни у крыс, далее существенно не изменяясь, в том числе и у старых животных.

НПУ-содержащие волокна и нейроны также обнаруживаются в тонкой и толстой кишке в интрамуральных узлах межмышечного сплетения уже с момента рождения и на протяжении остальных изучаемых возрастных периодов. В узлах подслизистого сплетения НПУ-иммунореактивные нейроны выявлялись с 10 суток жизни. Количество НПУ-содержащих нейронов увеличивалось в интрамуральных узлах межмышечного и подслизистого сплетения в течение 20 суток жизни. У новорожденных животных плотность НПУ-иммунореактивных волокон наименьшая и достоверно возрастает с момента рождения в течение первых 20 суток жизни, далее существенно не изменяясь, в том числе и у старых двухлетних крыс.

Экспрессия рецепторов Y_5 в сердце и кишке является наиболее выраженной у новорожденных и значительно снижается первые 10 суток, далее не изменяясь. В противоположность, плотность Y_1 и Y_2 рецепторов увеличивалась в онтогенезе. При этом Y_1 рецепторы определялись в небольшом количестве у новорожденных крыс и их количество возрастает в первые 20 суток жизни, Y_2 рецепторы выявляются лишь с 20 суток жизни, не меняя в последующем степень экспрессии.

НПУ является не только нейротрансмиттером, но и трофическим фактором. НПУ вызывает гипертрофию миокарда и обладает ангиогенным эффектом. Главным образом стимулирующее влияние на васкуляризацию осуществляется за счет Y_1 , Y_2 и Y_5 рецепторов [2]. НПУ стимулирует активацию, миграцию, пролиферацию эндотелиальных клеток. Установлено, что НПУ требуется для возрастного развития кальциевых каналов L-типа в миокарде [3]. Есть данные об увеличении под влиянием НПУ плотности α и β -адренорецепторов в сердечной мышце, что, важно для становления симпатической иннервации сердца [4]. В кишке НПУ играет также важную роль в модулировании функций иммунных клеток и эпителиального барьера. При воспалении кишечника, содержание НПУ снижается [5].

Список литературы.

1. Ноздрачев А.Д., Маслюков П.М. // Журн. Эвол. Биохим. Физиол. 2011. Т.47(2). С.105-112.
2. Saraf R., Mahmood F., Amir R., Matyal R. // Eur. J. Pharmacol. 2016. V.776. P.64-70.
3. Protas L., Barbuti A., Qu J. et al. // Circ. Res. 2003. V.93. P.972-979.
4. Rocha-Singh K.J., Matsuo R., Karliner J.S. // Eur. J. Pharmacol. 1995. V.288. P.349–353.
5. Chandrasekharan B., Nezami B.G., Srinivasan S // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2013. V.304. P.G949-G957.

БЫСТРЫЙ ВАЗОДИЛАТАТОРНЫЙ ЭФФЕКТ T4 В АРТЕРИЯХ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫС ОПОСРЕДОВАН ИНТЕГРИНОМ $\alpha v \beta 3$ И ИНТЕГРИН-СВЯЗАННОЙ КИНАЗОЙ

Селиванова Е.К.¹, Гайнуллина Д.К.¹, Тарасова О.С.^{1,2}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Тиреоидные гормоны участвуют в регуляции работы многих систем организма, в том числе кровеносной системы. Их эффекты можно разделить на два типа: геномные эффекты, для реализации которых необходима активация ядерных рецепторов, и негеномные эффекты, которые задействуют различные сигнальные пути в зависимости от типа ткани. Так как негеномные эффекты были открыты относительно недавно, они значительно хуже изучены, чем геномные, хотя, по всей видимости, вносят большой вклад в тиреоидную регуляцию работы организма. Одним из негеномных эффектов тиреоидных гормонов на кровеносную систему является «быстрое» расслабление сосудов. Такая «быстрая» вазодилатация была показана для нескольких регионов сосудистого русла, например, для аорты, артерий тонкого кишечника, а также коронарных и бедренных артерий, однако задействованные рецепторы и активируемые ими сигнальные пути не были исследованы. Кроме того, не был исследован такой важный регион сосудистого русла, как артерии скелетных мышц. В связи с этим, целью нашей работы было исследовать механизмы негеномных эффектов тиреоидных гормонов в артериях скелетных мышц крыс.

Мы регистрировали сократительные ответы изолированных артерий икроножной мышцы ($d=270-400$ мкм) крыс (Вистар, $m=300-450$ г) в изометрическом режиме. В некоторых экспериментах было проведено механическое удаление эндотелия при помощи крысиного уса. Эффективность удаления эндотелия подтверждалась отсутствием расслабления препарата в

ответ на ацетилхолин. Сравнение сократительных ответов препаратов проводили при помощи 2-way ANOVA, выборка составляла 5-13 для каждой группы.

T4 вызывал более выраженное дозозависимое расслабление предсокращенных артерий (предсокращение было индуцировано метоксамином, агонистом α_1 -адренорецепторов) икроножной мышцы по сравнению с T3. Минимальная действующая концентрация T4 составила 2 мкМ. Более того, преинкубация с T4 (3 или 10 мкМ) приводила к подавлению сократительных ответов на метоксамин, причем наблюдалось снижение как рD2, так и максимальной силы сокращения. В присутствии тетрака, конкурентного ингибитора интегрин $\alpha_v\beta_3$ (3 мкМ), этот эффект не проявлялся. T4 подавлял сократительные ответы артерий как на фоне ингибитора NO-синтазы L-NNA (100 мкМ), так и в артериях с удаленным эндотелием. Более того, вазодилаторный эффект T4 наблюдался в присутствии ингибитора Src-киназы (PP2, 10 мкМ), блокатора VK_{Ca} каналов (ибериотоксин, 0.1 мкМ) и ингибитора Rho-киназы (Y27632 3 мкМ). Тем не менее, ингибитор интегрин-связанной киназы (Cpd22, 10 мкМ) подавлял вазорелаксацию, индуцированную T4.

Таким образом, T4 вызывает более выраженное «быстрое» расслабление артерий икроножной мышцы по сравнению с T3. Этот эффект является эндотелий-независимым и не связан с изменением уровня продукции NO. Мишенью действия T4 в гладкомышечных клетках артерий не являются Src-киназа, VK_{Ca} каналы и Rho-киназа. Его эффект опосредован интегрином $\alpha_v\beta_3$ и интегрин-связанной киназой. Негеномная вазодилатация, индуцированная T4, может быть одним из механизмов в основе снижения общего периферического сопротивления при гипертиреозе. Она также может приводить к побочным эффектам на кровеносную систему при гормональной заместительной терапии при гипотиреозе.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ НАРУШЕНИЯ СТРУКТУРНОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ И ВЫСВОБОЖДЕНИЯ АТФ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Сидоренко С.В.^{1,3}, Лунева О.Г.¹, Зиганшин Р.Х.², Орлов С.Н.^{1,3,4}

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

³Томский государственный университет, Томск, Россия

⁴Сибирский государственный Медицинский университет, Томск, Россия

Введение. Не смотря на ряд исследований, проведённых в последние три десятилетия, молекулярные механизмы выброса АТФ из эритроцитов в ответ на снижение парциального давления кислорода остаются мало изученными. Сравнительно недавно было установлено, что в эритроцитах человека выброс АТФ, инициируемый гипоксией, а также механическими воздействиями и понижением внеклеточной осмолярности, сопровождается высвобождением гемоглобина [1]. В этой связи мы предположили, что выход АТФ из эритроцитов, по крайней мере частично, обусловлен нарушением целостности плазматической мембраны [1].

Материалы и методы исследования. Эксперименты проводили с использованием крови самцов крыс Вистар. Выделенную кровь трехкратно отмывали от плазмы и клеток белой крови. Протокол вытеснения кислорода из суспензии эритроцитов описан нами ранее [2]. Тени эритроцитов получали по методу Wyse и соавторов [3] с модификациями [2].

Жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (LC-MS). Белки теней эритроцитов расщепляли трипсином в соответствии с протоколом [4].

Полученные данные были проанализированы с помощью программного обеспечения MaxQuant, списки пептидов были проанализированы с использованием базы данных UniProt и общей базы данных о контаминантах поисковой системы Andromeda.

Результаты. Качественный анализ состава белков теней эритроцитов, позволил нам идентифицировать 2385 белков в 3 контрольных образцах (NEG) и 1968 белков в 3

гипоксических образцах (NEG). Сравнительный анализ показал, что среди всего числа идентифицированных белков общими для 3 образцов NEG были 1159 белков, тогда как для 3 образцов NEG - 830 белков.

Безметочный количественный анализ белков позволил нам сравнить относительное содержание белков в телях эритроцитов, полученных в 3 независимых экспериментах, проведённых в контрольных условиях и в условиях гипоксии эритроцитов. После сравнительного анализа этих белков, был получен конечный список белков, в который вошли 18 белков, содержание которых статистически достоверно изменялось под влиянием 20-минутной гипоксии во всех трех парах образцов.

Обсуждение. Среди белков, чьё содержание в образцах, полученных в условиях гипоксии, увеличивается в 2–3 раза, мы обнаружили все идентифицированные субъединицы гемоглобина. Действие гипоксии сопровождалось 1,5-кратным увеличением содержания супероксидизмутазы. Анализ пост-трансляционных модификаций всех мембраносвязанных белков показал, что окислительным модификациям в большей мере подвержены белки в контрольных образцах (NEG) по сравнению с телями эритроцитов, подвергнутых гипоксии (NEG). Исследования последних лет показали, что белки группы Cullin образуют молекулярный каркас, который выполняет решающую роль в посттрансляционной модификации белков посредством их убиквитинилирования. Белки CUL1-CUL7 группы кулинов образуют субъединичные комплексы с группой E3 лигазы. Эти комплексы переносят убиквитин на белки как метку для их последующей деградации на протеосомах. Анализ данных с помощью базы данных KEGG, показывает, что большинство белков этого комплекса присутствуют в контрольных образцах и отсутствуют в гипоксических, подвергнутых 20-мин гипоксии [5]. Эти данные позволяют предположить, что в условиях нормоксии этот комплекс ассоциирован с мембраной эритроцитов, осуществляя убиквитинилирование мембранных белков, нарушенных в результате продукции АФК. Другим участником этого процесса могут быть кислород-чувствительные протеазы, вовлеченные в деградацию белков мембранного цитоскелета, включая белок полосы 3, белок 4.1 и гликофорин-С. В условиях гипоксии деоксигемоглобин связывается с цитоплазматическим доменом белка полосы 3, что приводит к высвобождению из мембраны комплекса Cullin-Rbx E3 и нарушению деградации мембранных белков, подвергнутых посттрансляционной модификации. Результатом всех этих изменений структурной организации мембраносвязанных белков является нарушение структурной целостности эритроцитов, приводящее к синхронному высвобождению АТФ и гемоглобина, зарегистрированному в наших экспериментах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (16-15-10026) и РФФИ (18-04-00063).

Список литературы.

1. Sikora J., Orlov S.N., Furuya K., Grygorczyk R. // Blood. 2014. V.124(13). P.2150-7.
2. Luneva O.G., Sidorenko S.V., Ponomarchuk O.O. et al. // Cell Physiol Biochem. 2016. V.39(1). P.81-8.
3. Wyse J.W., Butterfield D.A. // Anal Lett. 1988. V.21(7). P.1131-40.
4. Kulak N.A., Pichler G, Paron I et al. // Nat. Nephrol. 2014. V.11. P.319-24.
5. Sidorenko S.V., Ziganshin RH, Luneva O.G. et al. // J Proteomics. 2018. V.184. P.25-33.

НЕКОТОРЫЕ ВЫВОДЫ ИЗ ИССЛЕДОВАНИЯ АСИММЕТРИЙ ТЕМПЕРАТУРЫ КОЖНОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Спицын А.А.

Государственный институт управления и социальных технологий БГУ, Минск, Беларусь

Взаимодействие поведенческих, автономных и гуморальных факторов в человеческом организме представляет собой одну из наиболее любопытных проблем, поставленных ещё во времена И.П. Павлова, но не решенных окончательно до сегодняшнего дня.

Целью данного сообщения является подведение итогов нескольких исследований по оценке билатеральных асимметрий температуры кожной поверхности инфракрасным термометром в сопоставлении с поведенческими особенностями исследуемых, а так же предварительные выводы о диагностическом потенциале такого подхода. В качестве билатерально симметричных точек для термометрического измерения мы выбрали проекции выступов лобной кости, проекции скуловых выступов, запястья и подушечки больших пальцев (центр пальцевого узора). Известно, что инфракрасное излучение кожной поверхности в тепловом диапазоне является манифестацией микроциркуляции в сосудах кожи [1].

При помощи избранного метода нами был проведён ряд антропологических исследований. На группе молодых женщин было показано, что индекс мезэндоморфии (по Э.И. Зборовскому [2]) положительно коррелирует с температурой кожной поверхности подушечек пальцев обеих рук и мочек ушей, что свидетельствует о более высоком уровне микроциркуляции в этих частях тела у лиц, чей соматотип ближе к эндоморфному [2]. При разделении группы испытуемых по признаку наличия той или иной выраженной или слабо выраженной акцентуации характера (по тесту Шмишека) было показано, что группа женщин с педантической акцентуацией имела более низкую общую температуру тела и кожи в точках на лбу и скулах, обладала более выносливыми типами нервной системы (по теппинг-тесту), отличалась астеническим и нормостеническим типом телосложения и более низкой средней массой тела в сравнении с группой, которой педантическая акцентуация была не свойственна [1]. В группе склонных проявлять неуравновешенную (возбудимую) акцентуацию испытуемых была отмечена более низкая температура правого большого пальца и более высокая термоасимметрия подушечек больших пальцев. [4].

Наиболее интересные, на наш взгляд, данные были получены при исследовании мужчин с никотин-аддиктивным поведением [3]. В группу исследования включались регулярно курящие и те, кто регулярно длительное время курил в прошлом. У в группе исследования была отмечена более высокая температура скул слева и термоасимметрия между подушечками больших пальцев рук ($1,3 \pm 0,5^\circ$ против $0,3 \pm 0,24^\circ$). При этом у 67 % мужчин никотин-аддиктивной группы термоасимметрия составила $0,9^\circ$ C и более, тогда как в контроле такая термоасимметрия наблюдалась только у 37,5 %.

Полученные нами данные указывают на то, что термоасимметрия подушечек больших пальцев рук может служить диагностическим критерием для первичного выделения субъекта, склонного к зависимому поведению. Отнести испытуемого к аддиктивному типу можно, если коэффициент термоасимметрии больше или равен $0,9^\circ$ C (температура подушечки правого пальца выше, чем левого).

Исходя из оценки наших случаев, чувствительность данного метода составила 62,5% а специфичность – 67 %. Общая чувствительность была 61,5% [4].

Таким образом, отмечен факт сопряжения различий в уровне и топографии кожной микроциркуляции и поведенческих склонностей индивида. Однако вскрытие физиологических и биохимических механизмов данного сопряжения остаётся вопросом будущих исследований.

Список литературы.

1. Спицын А.А. // С. Доклады БГУИР. 2016. Т.7. С.83-87.
2. Спицын А.А. // Доклады БГУИР. 2016. Т.7. С.87-91.
3. Спицын А.А. // Здоров'я людини: теорія і практика: матеріалі міжнародної науково-практичної конференції. / под ред. О.О.Ежовой. – Сумы: Сумський державний університет, 2017. С.215-220
4. Спицын А. А. // Фундаментальная наука современной медицине 2018: материалы сателл. Дистанцион. науч. конф. студентов и молодых ученых. Минск: БГМУ.2018. С.79-82.

ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ СЕНСИТИЗАЦИЯ АЛЬФА1А-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ КАК МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТАТУСА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Тюрин-Кузьмин П.А., Иванова А.М., Чечехин В.И., Балацкий А.В., Сысоева В.Ю., Максимчик П.В., Калинина Н.И.

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

Ожирение и метаболические болезни, ассоциированные с ним, приобрели в последние десятилетия характер пандемий. Помимо неправильного питания ожирение вызывается постоянным психо-эмоциональным стрессом. Ожирение ассоциировано, преимущественно, с разрастанием подкожной и висцеральной жировой ткани. Клетки подкожной жировой ткани оканчивают пролиферацию и дифференцируются в адипоциты на ранних этапах развития организма. В дальнейшем разрастание подкожной жировой ткани, даже в случае существенного набора веса, происходит не за счет повышения количества клеток (гиперплазии), а путем увеличения размеров отдельных прежде дифференцированных адипоцитов (гипертрофии) из-за накопления в них жировых капель [1]. Новые адипоциты появляются в рамках замены естественно убывающих, но этот процесс в жировой ткани медленный и строго регулируемый, так что общее количество адипоцитов не изменяется. Дополнительные адипоциты происходят в результате дифференцировки мезенхимных стволовых клеток (МСК) [1]. Баланс между направлением МСК в пролиферацию и дифференцировку с одной стороны, и самообновлением и поддержанием их стволовости с другой, лежат в основе корректного функционирования жировой ткани и сохранения ее регенеративного потенциала.

МСК найдены в большинстве тканей нашего организма, они расположены вблизи сосудов и морфологически похожи на простые фибробласты. В процессе развития эмбриона группа клеток мигрирует из нервного гребня в периферические ткани. Эти клетки экспрессируют нестин - белок промежуточных филаментов нейральных стволовых клеток. Часть клеток дифференцируется в нейроны симпатической нервной системы, а другая часть остается одиночными недифференцированными клетками в тканях [2]. Вторая группа клеток и оказывается во взрослом организме МСК. МСК выполняют функции поддержания гомеостаза тканей, паракриной регуляции тканеспецифичных стволовых клеток, а также способны дифференцироваться в кость, хрящ, жир [3]. МСК подвержены строгой регуляции. Они непосредственно контактируют с симпатическими нейронами и, располагаясь периваскулярно, регистрируют гормональный фон организма [4]. Одним из ключевых регуляторов МСК является медиатор симпатической нервной системы и гормон норадреналин.

Норадреналин действует на МСК в типичном случае через бета-адренорецепторы. Ранее мы установили, что МСК экспрессируют также альфа1-, и альфа2-изоформы адренергических рецепторов [4,5], функции которых в МСК на сегодняшний день не до конца ясны. В данной работе мы выясняли роль адренорецепторов в регуляции метаболического и дифференцировочного статуса МСК.

Мы обнаружили оригинальный механизм регуляции чувствительности МСК к норадреналину. При действии на них норадреналина основные физиологические ответы опосредуются бета-адренорецепторами, что полностью соответствует литературным данным. Однако через 6 часов после первичного воздействия этого гормона в МСК экспрессируется дополнительное количество функционально-активных альфа-1А-адренорецепторов, а бета-адренорецепторы подвергаются даун-регуляции. Это приводит к тому, что на повторную обработку норадреналином МСК отвечают активацией альфа-1А-адренорецепторов и кальциевой сигнализацией, а не через цАМФ-зависимый сигнальный каскад бета-адренорецепторов. Такое переключение сигнализации в МСК, названное нами гетерологической сенситизацией, приводит, с одной стороны, к подавлению адипогенной дифференцировки МСК, с другой, к переходу клеток на полностью анаэробный метаболизм.

Анаэробный гликолиз является одной из важнейших характеристик стволовых клеток, как здоровых, так и раковых.

Таким образом, помимо хорошо известных механизмов даун-регуляции активированных лигандом рецепторов, мы обнаружили в МСК новый механизм гетерологической сенситизации, который влияет на метаболический статус клеток и регулирует переход между статусами стволовой клетки с анаэробным метаболизмом и направлением клеток в дифференцировку.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-015-00421 в части гетерологической сенситизации и РФФИ №19-75-30007 в части метаболической активности клеток.

Список литературы.

1. Wang Q.A., Tao C, Gupta R.K., et al. // Nat Med. 2013. V.19(10). P.1338-44.
2. Isern J, Garcia-Garcia A, Martin A.M., et al. // Elife. 2014.V.3. P.e03696.
3. Friedenstein A.J., Chailakhjan R.K., Lalykina K.S. // Cell Tissue Kinet. 1970. V.3(4). P.393-403.
4. Kotova P.D., Sysoeva V.Y., Rogachevskaja O.A., et al.// Biochim Biophys Acta. 2014. V.1843(9). P.1899-908.
5. Tyurin-Kuzmin P.A., Fadeeva J.I., Kanareikina M.A., et al. // Sci Rep. 2016. V.6. P.32835.

В ИММОРТАЛИЗОВАННЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ НАРУШЕНА АДРЕНЕРГИЧЕСКАЯ СИГНАЛИЗАЦИЯ

Чечехин В.И., Иванова А.М., Тюрин-Кузьмин П.А., Сысоева В.Ю., Калинина Н.И.
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) выявляются в большинстве тканей организма и играют ключевую роль во многих процессах, включая поддержание гомеостаза жировой ткани и ее обновление. Функциональная активность МСК регулируется гормонами и нейромедиаторами, среди которых одним из ключевых является норадреналин. Ранее в нашей лаборатории в МСК был найден уникальный феномен гетерологической сенситизации адренорецепторов, который заключается в повышении чувствительности альфа1А-адренорецепторов при стимуляции бета-адренергических рецепторов. Как следствие, внутриклеточная сигнализация, стимулируемая норадреналином в МСК, переключается с цАМФ на кальций-зависимую, что сопряжено с изменением клеточного ответа. Ранее схожий механизм был обнаружен только в эмбриональных клетках при первичном формировании катехоламинового чувствительности клеток. Также было показано, что соотношение между субпопуляциями МСК, полученных из жировой ткани, экспрессирующих адренергические рецепторы $\alpha1A$, $\alpha1B$, $\alpha2A$, $\alpha2B$, $\beta1$, $\beta2$ и $\beta3$, существенно варьируется от донора к донору. Кроме того, не все клетки, несмотря на экспрессию рецепторов, отвечают при действии соответствующего агониста. Из-за высокой гетерогенности первичных МСК дальнейшее исследование сигнальных механизмов адренергической регуляции требует популяции с более однородной экспрессией адренорецепторов. Для этого мы решили использовать охарактеризованную линию иммортализованных МСК, полученных из жировой ткани (hTERT-МСК). hTERT-МСК имеют большой потенциал для использования в регенеративной медицине, например, для заживления костных повреждений и хрящевой ткани.

В данной работе мы сравнивали чувствительность линейных hTERT-МСК и первичных МСК к норадреналину, а также способность этих клеток к регуляции чувствительности к катехоламинам. С помощью иммунофлуоресцентного анализа мы показали, что hTERT-МСК экспрессируют все типы адренорецепторов как на поверхности мембраны, так и в цитоплазме клеток. И в первичных МСК, и в линии hTERT-МСК, преобладали $\alpha1A$ -адренорецепторы. Анализ с помощью проточной цитометрии показал, что процент линейных клеток, содержащих различные изоформы адренорецепторов, был довольно стабильным, но ниже по

сравнению с первичными культурами. При исследовании чувствительности hTERT-МСК к норадреналину путем регистрации Ca^{2+} -ответа мы продемонстрировали, что только $1,9 \pm 0,3\%$ клеток отвечали на норадреналин повышением уровня внутриклеточного кальция, что приблизительно в 4 раза ниже по сравнению с первичными МСК. При этом, вариабельность числа клеток, отвечающих на норадреналин, в hTERT-МСК была сходной с таковой в первичной культуре клеток. Ранее мы показали, что первичные МСК отвечают на норадреналин кальциевой сигнализацией через $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -адренорецепторы. Используя специфические агонисты $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -адренорецепторов – фенилэфрин и клонидин соответственно, мы показали, что hTERT-МСК отвечают на норадреналин Ca^{2+} -зависимым путем только через $\alpha 1$ -адренорецепторы. Исследуя феномен гетерологической сенситизации у hTERT-МСК, мы показали, что у данной культуры клеток отсутствовала регуляция чувствительности к норадреналину, в отличие от первичной культуры клеток. При помощи иммуноферментного анализа, мы показали, что отсутствие гетерологической сенситизации $\alpha 1$ -адренорецепторов связано со сниженным потенциалом линейных клеток к синтезу сАМР.

Таким образом, hTERT-МСК по сравнению с первичными МСК проявляют ослабленную способность реагировать на норадреналин, а также регулировать чувствительность к данному гормону.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-80018.

Список литературы.

1. Kotova P.D., Sysoeva V.Y., Rogachevskaja O.A. et al. // *Biochim Biophys Acta*. 2014. V.1843(9). P.1899-908.
2. Tyurin-Kuzmin P.A., Fadeeva J.I., Kanareikina M.A. et al. // *Sci Rep*. 2016. V.6. P.32835.
3. Wolbank S, Stadler G, Peterbauer A et al. // *Tissue Eng Part A*. 2011. V.15(7). P.1843-54.

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ОБЛАДАЮТ ВЫРАЖЕННЫМ АНТИКОНСТРИКТОРНЫМ ВЛИЯНИЕМ В АРТЕРИЯХ КРЫС В ПЕРИОД РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Швецова А.А.^{1,2}, Гайнуллина Д.К.¹, Лукошкова Е.В.³, Шуберт Р.^{2,4}, Тарасова О.С.^{1,5}

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

²Центр биомедицины и медицинских технологий Мангейма и Европейский центр ангиологии, Научно-исследовательский отдел физиологии сердечно-сосудистой системы, Медицинский факультет г. Мангейма, Университет г. Гейдельберга, Мангейм

³Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии, Москва, Россия

⁴Кафедра физиологии, Университет г. Аугсбурга, Аугсбург

⁵Государственный научный центр Российской Федерации - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Калиевые каналы играют важную роль в регуляции мембранного потенциала гладкомышечных клеток, и, следовательно, тонуса сосудов. В гладкой мышце сосудов представлены потенциал-зависимые калиевые каналы (K_v1 , K_v2 и K_v7), кальций-активируемые калиевые каналы большой проводимости (BK_{Ca}), АТФ-чувствительные калиевые каналы (K_{ATP}), калиевые каналы входящего выпрямления (K_{ir}) и калиевые каналы, имеющие две порообразующие петли ($\text{K}_{2\text{P}}$). Активация калиевых каналов ведет к гиперполяризации и расслаблению гладкомышечных клеток сосудов. Таким образом, в норме калиевые каналы противодействуют сокращению, т.е. выполняют антиконстрикторную роль. Важно отметить, что развитие ряда сердечно-сосудистых заболеваний связано с нарушением функционирования калиевых каналов.

Известно, что сердечно-сосудистая система новорожденного организма обладает рядом особенностей по сравнению со взрослым. В частности, уровень артериального давления

крысят в возрасте 10-15 дней практически в два раза ниже, чем у взрослых крыс. При этом возрастные изменения функционирования калиевых каналов в гладкой мышце периферических сосудов большого круга кровообращения, играющих ключевую роль в регуляции артериального давления, до сих пор остаются не изученными. Мы предположили, что антиконстрикторное влияние калиевых каналов в резистивных артериях крыс в период раннего постнатального онтогенеза выше, чем во взрослом возрасте.

В работе использовали крыс в возрасте 10-15 дней (период раннего постнатального онтогенеза) и 2-3 месяцев (взрослые). Для оценки вклада разных семейств калиевых каналов в регуляцию сократительных ответов артерий (базального тонуса и реакций на агонист α_1 -адренорецепторов метоксамин) исследовали эффекты селективных блокаторов этих каналов в экспериментах *in vitro* в изометрическом режиме с использованием изолированных сегментов подкожной артерии с удаленным эндотелием. Нами не было обнаружено вклада K_v2 и K_{ATP} каналов в регуляцию сократительных ответов артерий ни у 10-15-дневных, ни у взрослых крыс. Блокада VK_{Ca} каналов вызвала развитие базального тонуса и более выраженное усиление сократительных ответов артерий крыс в возрасте 2-3 месяцев по сравнению с 10-15-дневными, что говорит о более значимом антиконстрикторном влиянии VK_{Ca} каналов у взрослых крыс. Интересно, что эффекты блокады большинства представителей калиевых каналов (K_v1 , K_{ir} и, особенно, K_v7 и TASK-1 (представитель семейства K_{2P})) на базальный тонус и/или сокращение в ответ на метоксамин были более выражены в подкожной артерии 10-15-дневных крыс по сравнению со взрослыми.

С использованием стандартной микроэлектродной техники мы продемонстрировали, что выраженная антиконстрикторная роль K_{ir} , K_v7 и TASK-1 каналов в период раннего постнатального онтогенеза связана с их более значимым гиперполяризующим влиянием в гладкой мышце подкожной артерии 10-15-дневных крысят.

В соответствии с результатами функциональных экспериментов, молекулярно-биологические исследования (ПЦР в реальном времени и Вестерн блоттинг) показали повышенный уровень экспрессии мРНК порообразующих и регуляторных субъединиц K_{ir} , K_v7 и TASK-1 каналов, а также белка K_v7 и TASK-1 каналов в гладкой мышце подкожной артерии 10-15-дневных крыс.

В заключительной части работы мы оценили роль TASK-1 каналов на системном уровне. Для этого проводили регистрацию артериального давления у наркотизированных крыс через катетер в сонной артерии и внутривенное введение блокатора. У крыс в возрасте 10-15 дней, но не 2-3 месяцев, блокада TASK-1 каналов вызывала повышение артериального давления.

Совокупность полученных данных позволяет заключить, что антиконстрикторная роль большинства представителей калиевых каналов, особенно, K_v7 и TASK-1, значительно выше в артериях крыс в период раннего постнатального онтогенеза по сравнению со взрослым возрастом. Мы предполагаем, что такое выраженное антиконстрикторное влияние калиевых каналов может служить одним из механизмов, способствующих поддержанию артериального давления на низком уровне в новорожденном организме. Низкое давление, в свою очередь, защищает незрелое сердце от высокой постнагрузки, сосуды - от чрезмерного растяжения, а также способствует увеличению кровоснабжения активно растущих органов и тканей.

СЕКЦИЯ «НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ АСПЕКТЫ»

АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МЫШЦАХ МЫШЕЙ С АЛЛОКСАНОВЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Альбова П.Е., Березин С.Р., Калигин М.С., Яковлева О.В.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Сахарный диабет – это группа эндокринных заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, возникающей из-за нарушения секреции и/или действия инсулина. Была показана связь между гипергликемией и внутриклеточными повреждениями метаболизма, которые, в свою очередь, могут привести к окислительному стрессу, слабому воспалению и эндотелиальной дисфункции [1].

Целью данной работы явилось выявление биохимических и функциональных изменений в мышцах у мышей при длительном аллоксановом сахарном диабете.

Для создания модели сахарного диабета белым лабораторным мышам внутрибрюшинно вводился аллоксан (200-250 мг/кг веса) после 24 часов голода.

Для определения функциональных изменений конечностей мышей проводились тесты «Ротарод» и «Сила хватки». Для теста «Ротарод» оценивалось время до падения с вращающегося со скоростью 5 об/мин. цилиндра [2]. Во время теста «Сила хватки» фиксировалось время нахождения животного на густой проволочной сетке [3].

С помощью классических спектрофотометрических методов проводили анализ активности глутатионпероксидазы, содержания малонового диальдегида, нитритов и сероводорода в мышцах задних конечностей мышей [4, 5].

С помощью иммуногистохимического метода показали, что количество инсулин положительных клеток в островках Лангерганса поджелудочной железы было существенно ниже нормы ($13.1 \pm 3.2\%$, $n=24$, $p<0.05$).

В результатах теста «Ротарод» отмечается достоверное снижение времени пребывания животного на цилиндре с 103 ± 8 сек до 69 ± 16 сек ($n=25$ и 15 , $p<0.05$). В тесте «Сила хватки» также отмечается достоверное снижение времени пребывания животного на сетке с 145 ± 15 сек до 99 ± 19 сек ($n=25$ и 15 , $p<0.05$).

Было отмечено достоверное уменьшение активности глутатионпероксидазы в мышечной ткани опытной группы (0.46 ± 0.05 мкМ/мл/мин, $n=25$, $p<0.05$) по сравнению с активностью такового в тканях контрольных животных (0.24 ± 0.02 мкМ/мл/мин, $n=25$). Наблюдали повышенное содержание малонового диальдегида в тканях опытной группы (0.30 ± 0.02 мкМ, $n=15$, $p<0.05$) по сравнению с содержанием такового в анализируемых тканях контрольных животных (0.19 ± 0.02 мкМ, $n=15$). Выявлено уменьшенное содержание нитратов в тканях опытной группы (32.3 ± 3.2 мкМ, $n=15$, $p<0.05$) по сравнению с их содержанием в тканях контрольных животных (41.5 ± 1.1 мкМ, $n=15$, $p<0.05$). Также было отмечено резкое снижение активности ферментов синтеза сероводорода в анализируемых тканях.

Таким образом, мы можем говорить, что у мышей с аллоксановым сахарным диабетом наблюдается нарушение координации движений, силы и выносливости мышц конечностей, которое связано с увеличением оксидативного стресса, снижением содержания нитритов и активности ферментов синтеза сероводорода в мышечной ткани мышей.

Список литературы

1. de Mattos Matheus, A.S // International Journal of Hypertension. 2013. V.2013.
2. Barlow C. // Cell. 1996. V.86 (1). P. 159-171.
3. Герасимова Е.В. Нейрофизиология поведения: методическое пособие / Казань: Казанский университет, 2016. – 49 с. – УДК 612.813.
4. РАСХН. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / Российская Академия Сельскохозяйственных Наук, отделение ветеринарной медицины, ГНУ Всероссийский

Научно-Исследовательский Ветеринарный Институт Патологии, Фармакологии и Терапии, Воронеж. – 2010.

5. Yusuf M. // Biochemical and biophysical research communications. 2005. V.333(4). P. 1146-1152.

ЭФФЕКТЫ АКТИВАЦИИ ГАМК(А)-РЕЦЕПТОРОВ ГИППОКАМПА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ В КОНТРОЛЕ И В УСЛОВИЯХ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

Гатаулина Э.Д., Курмашова Е.Д.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является основным тормозным медиатором центральной нервной системы взрослого организма. Полагают, что ГАМК-эргическое торможение является основным препятствием в нейрональных сетях для распространения пароксизмальной активности. Многие используемые на данный момент противозипелитические препараты усиливают ГАМК-эргическую передачу путем либо позитивной аллостерической модуляции ГАМК(А)-рецепторов, либо блокадой их деградации и инактивации. Однако на ранней стадии онтогенеза ГАМК оказывает деполаризирующее действие на незрелые нейроны из-за более высокой концентрации [Сl] в клетках. Ранний постнатальный период развития центральной нервной системы млекопитающих характеризуется наличием особой формы спонтанной сетевой активности, которая, предположительно, участвует в формировании целостной нейрональной сети. Как было показано в исследованиях на срезах гиппокампа новорожденных крысят, таким паттерном сетевой активности являются гигантские деполаризирующие потенциалы (ГДП). ГДП совпадают с периодом возбуждающего действия ГАМК, при переходе, по мере созревания мозга, ГАМК в тормозной медиатор ГДП исчезают. Все вышеупомянутые процессы характерны для здорового организма млекопитающих. Однако существуют патологические состояния, при которых могут происходить нарушения ГАМК-эргической системы возникновения ГДП. Нарушение ГАМК-эргического торможения приводит к изменениям активности нейронных сетей вплоть до приобретенных эпилептических синдромах.

Одной из патологий, способной патологически изменить развивающуюся нейрональную сеть является гипергомоцистеинемия (ГГЦ). Гомоцистеин (ГЦ) способен беспрепятственно проникать через плаценту и оказывать токсическое влияние на плод. ГЦ выступает агонистом для двух типов глутаматных рецепторов, метаботропных (группа I и III) и ионотропных АМПА-рецепторов и НМДА-рецепторов. Гомоцистеин является также антагонистом ГАМК(А)-рецепторов в гематоэнцефалическом барьере и при взаимодействии с ними делать его более проницаемым для токсических веществ.

Целью данной работы было выяснить функцию ГАМК в гиппокампе новорожденных крысят в норме и в условиях пренатальной ГГЦ.

Эксперименты проводились на горизонтальных срезах гиппокампа крысы в первую неделю после рождения (P6-P7, P0 - день рождения). Запись осуществлялась внеклеточным электродом с СА3 области гиппокампа в контроле и при аппликации агониста ГАМК(А)-рецепторов изогуваина на 1 мин. Оценивалась частота потенциалов действия (ПД) в условиях контроля и после активации ГАМК(А)-рецепторов.

У контрольных животных аппликация изогуваина вызвала усиление сетевой активности у 71% срезов в два раза относительно контроля. У 29% срезов аппликация изогуваина приводила к снижению частоты ПД на 30% по сравнению с исходной. На срезах, полученных от крысят, страдающих ГГЦ, активация ГАМК(А)-рецепторов приводила к увеличению частоты ПД в два раза в 78% экспериментов. Таким образом, у животных в первую неделю постнатального развития как в контроле, так и в условиях пренатальной ГГЦ активация ГАМК(А)-рецепторов вызывает возбуждение нейрональной сети гиппокампа, что говорит о незрелости нейронов. По-видимому, наличие срезов, где активация ГАМК(А)-рецепторов

приводила к угнетению сетевой активности, связано с неравномерностью созревания нейрональной сети.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-015-00423 А.

Список литературы.

1. Boldyrev A., Bryushkova E., Mashkina A. et al. // *Curr Aging Sci.* 2013. V.6(1). P.29-36.
2. Khalilov I., Minlebaev M., Mukhtarov M. et al. // *J. Neurosci.* 2015. V.35. P.12635–12642.
3. Khazipov, R., Valeeva, G., Khalilov, I. // *CNS Neuroscience & Therapeutics* 2015. V.21. P.83–91.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗВИТИЯ РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ КОРКОВОЙ ДЕПРЕССИИ В УСЛОВИЯХ *IN VIVO* У КРЫС С ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ

Еникеев Д.Р., Герасимова Е.В., Яковлева О.В., Яковлев А.В.
Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия
Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия

На сегодняшний день внимание многих ученых сосредоточено на поиске соединений, которые способны отображать и влиять на биохимический профиль организма. Например, гомоцистеин, который является предиктором при множестве заболеваний. Гомоцистеин обладает нейротоксическими свойствами и может лежать в основе ухудшения нейрогенеза и пластичности развивающегося мозга [1]. У пациентов с мигренозной аурой наблюдается повышенное содержание гомоцистеина в плазме [2]. Доказано, что в основе ауры мигрени, а также индукции головной боли, лежит распространяющаяся корковая депрессия (РКД). При неврологических расстройствах РКД может играть важную роль в патофизиологическом механизме повреждения головного мозга. Целью данной работы является анализ развития распространяющейся корковой депрессии в условиях *in vivo* у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией.

Исследования проводилось на самцах и самках крыс линии Вистар в возрасте 3-6 месяцев, весом 180-350 г. Контрольная группа (n=12) – здоровые животные; ГГц группа (n=13) – животные с пренатальной гипергомоцистеинемией.

Хирургия животных проводилась под изофлурановой анестезией, а перед регистрацией ЭЭГ животным в/б вводили уретан 1.5 г/кг. В стереотаксическом аппарате в области соматосенсорной коры (AP-(2.5мм) и L-(5.5мм) от брегмы) было просверлено отверстие $d=2$ мм и сформирована «ванночка» из цемента. Через отверстие вводили электрод для записи ЭЭГ и апплицировали раствор KCl (1M) (10 мкл) для индукции РКД. Записи ЭЭГ проводили линейной 16-ти канальным электродом с расстоянием между регистрирующими электродами 100 мкм (Neuronexus, США). После 2 часовой регистрации РКД, мозг нарезали на виброслайсере HM 650 V (Microm International, ФРГ). Окрасивание живых нейронов на срезах проводили красителем TTC (2, 3, 5-трифенилтетразолий хлорид). Статистический анализ проводили с помощью непараметрическими методами, критерий Манна-Уитни ($p < 0.05$).

Аппликация раствора KCl (1M) на поверхность мозговой оболочки приводила к возникновению РКД. Этому событию предшествуют множественные потенциалы действия (МПД).

Анализ МПД до РКД выявил существенные различия между ГГц и К группой. Частота МПД в слое коры до аппликации KCl у животных ГГц гр. был существенно выше, чем у контрольных животных и составил в ГГц гр. 22.70 ± 4.55 1/с, а в контрольной- 11.66 ± 3.30 1/с ($p < 0.05$). Латентный период с момента нанесения KCl (1M) до возникновения РКД у контрольной гр. был достоверно длительнее, чем у ГГц гр. и составил 72 ± 16.84 с и 65.52 ± 12.3 с, соответственно ($p < 0.05$).

Анализ количества КС1-вызванных РКД показал, что в контрольной гр. среднее количество РКД за 2 часа воздействия КСЛ составило 11.08 ± 2.08 , а в ГГц гр. 22.61 ± 2.86 ($p < 0.05$). Распространение РКД по глубине коры также различалось между группами. Первые КС1-вызванных РКД в обеих группах возникали в верхних (L2) слоях коры головного мозга и далее распространялись в нижние. Последующие РКД у контрольной группы также возникали в верхних слоях коры головного мозга (L2). Однако у животных ГГЦ группы дальнейшие РКД начинались уже в слоях L3, L4, а концу 2 часа возникали в L5-6.

Таким образом, фоновая частота МПД и количество КСЛ- вызванных РКД у животных с пренатальной гипергомоцистеинемией выше, чем у контрольных, что свидетельствует об отличной от контрольных животных возбудимости мозга и чувствительности к распространяющейся корковой депрессии у животных с пренатальной гипергомоцистеинемией выше, чем у здоровых крыс.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 18-015-00423

Список литературы.

1. S. E. Vollset // Am. J. Clin. Nutr. 2000. V.71. P.962–968.
2. А. В. Бутенко // Молодой ученый. 2016. №1. С.78-82.

ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА АТФ-ВЫЗВАННЫЕ Ca^{2+} -СИГНАЛЫ В ИЗОЛИРОВАННЫХ НЕЙРОНАХ ТРИГЕМИНАЛЬНОГО ГАНГЛИЯ КРЫС

Ермакова Е.В., Королёва К.С., Ситдикова Г.Ф

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Первичные головные боли (к которым относится мигрень) – широко распространенное явление, которое оказывает существенное негативное влияние на качество жизни пациентов. Кроме того, данное заболевание все еще трудно поддается лечению. В связи с этим, актуальным остается изучение механизмов патогенеза мигрени и поиск новых терапевтических средств. В исследовании рассматривается взаимодействие газомедиатора сероводорода (H_2S) и классического альгогена АТФ. H_2S синтезируется в нервной системе с помощью фермента цистатионин- β -синтазы, уровень экспрессии которого меняется в ответ на развитие патологического процесса [1]. Пуринергическая теория мигрени, предложенная Бернстоком, отводит значительную роль АТФ и его метаболитам в патогенезе мигрени [2]. Имеются данные о том, что АТФ напрямую активирует $P2X_3$ рецепторы как в изолированных тригеминальных нейронах, так и в периферических окончаниях тригеминального нерва, которые непосредственно учувствуют в передаче болевых стимулов [3]. Однако недостаточно данных о воздействии нескольких активных агентов на отдельные звенья цепочки передачи ноцицептивной информации. Целью данной работы является оценка влияния донора сероводорода $NaHS$ на АТФ-вызванные Ca^{2+} -токи на изолированных нейронах тригеминального ганглия.

Эксперименты проводились на изолированных нейронах тройничного ганглия крысят в возрасте 10-15 дней. Тригеминальные нейроны выделялась, диссоциировались, перемещались на стекла, покрытые поли-L-лизинном и выдерживались в инкубаторе при температуре $37^\circ C$ и концентрации CO_2 5% в течение 24 часов до начала эксперимента. Для визуализации кальциевых токов в клетках был использован флуоресцентный маркер Fluo4-AM (2 мМ). Клетки помещались во внеклеточный раствор, содержащий краситель, и выдерживались 40 минут в инкубаторе при отсутствии света. Далее клетки помещали на 10 минут в обычный внеклеточный раствор с целью обеспечения полной дезтерификации сложных эфиров АМ, а затем проводили флуоресцентную визуализацию окрашенных клеток. Все вещества апплицировали с помощью системы быстрой перфузии.

Было выяснено, что из всей популяции на АТФ отвечали кальциевым током 70% клеток. В контрольных экспериментах анализировали амплитуды Ca^{2+} -токов при повторной аппликации АТФ, таким образом изучалось наличие или отсутствие десенситизации P2X-рецепторов. Производилась первая аппликация АТФ, затем отмывка простым внеклеточным раствором в течение трех минут и осуществлялась вторая аппликация АТФ. В таких условиях средняя амплитуда первого ответа на АТФ составила $6,90 \pm 0,73$ о.е. ($n=30$), а амплитуда ответа, вызванного через три минуты отмывки, составила $6,45 \pm 0,64$ о.е. ($n=30$, $p > 0,05$), достоверных различий в таком случае не наблюдалось.

В следующей серии экспериментов было выявлено влияние сероводорода на интенсивность кальциевых токов, возникающих в тригеминальных нейронах при действии АТФ. На клетки с помощью системы быстрой перфузии апплицировали внеклеточный раствор, содержащий АТФ (100 мкМ), в течение 2 секунд, вызывая кальциевый ответ. Затем в течение трех минут производилась аппликация раствора, содержащего NaHS (300 мкМ), и после этого, путем быстрой аппликации АТФ, вызывался кальциевый ответ на фоне действия сероводорода. Для дифференциации нейрональных и глиальных клеток использовался раствор KCl. Средняя амплитуда кальциевого тока, вызванного АТФ, в контроле составила $4,07 \pm 0,49$ о.е. ($n=35$), а на фоне действия сероводорода - $1,97 \pm 0,31$ о.е. ($n=35$, $p < 0,05$).

Таким образом, сероводород снижает амплитуду кальциевого ответа на АТФ более чем в два раза. Полученные данные указывают на анти-ноцицептивное действие сероводорода в тригеминальном ганглии и, возможно, это соединение может служить кандидатом на роль терапевтического средства при мигрени.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-315-00256 в рамках программы повышения конкурентоспособности КФУ.

Список литературы.

1. Koroleva K. et al. //Frontiers in cellular neuroscience. 2017. V.11. P.226.
2. Burnstock G. //European journal of pharmacology. 2013. V.716(1-3). P.24-40.
3. Yegutkin G. G. et al. //Purinergic signalling. 2016. V.12(3). P.561-574.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНЫХ ЧЕРТ ПОВЕДЕНИЯ НА ФОНЕ МОТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ В МОДЕЛИ ГЕМИПАРКИНСОНИЗМА У КРЫС

Каримова О.С.

ФГБУ НМИЦ ПН им. В.П.Сербского, Москва, Россия

Болезнь Паркинсона – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, поражающее людей пожилого возраста, являющееся вторым по распространённости после болезни Альцгеймера. Болезнь Паркинсона характеризуется широким спектром как моторных (тремор покоя, постуральная неустойчивость, дискинезия и т.д.), так и немоторных симптомов (нарушение сна, депрессия, когнитивные нарушения). Поскольку этиология заболевания остаётся неясной, эффективного лечения не существует; терапия болезни Паркинсона направлена на устранение двигательных расстройств, однако вызывает серьёзные побочные эффекты, например, депрессию. В продромальной фазе заболевания проявляются немоторные симптомы, среди которых особое внимание уделяют депрессии, и слабое проявление некоторых моторных симптомов. В основе патогенеза болезни Паркинсона лежит гибель дофаминергических нейронов чёрной субстанции, что приводит к снижению уровня дофамина. Также снижается уровень BDNF – нейротрофического фактора мозга, участвующего в процессе роста нейронов, аксонов и дендритов и формировании синапсов. Международные исследования показали взаимосвязь между снижением BDNF и депрессией, что может позволить диагностировать болезнь Паркинсона на продромальной стадии и начать нейропротекторную терапию. В связи с этим целью данной работы было исследование

экспрессии BDNF в формировании депрессивно-подобных черт поведения на фоне моторных нарушений в модели 6-OHDA-индуцированного гемипаркинсонизма у крыс линии Wistar.

Работа по моделированию гемипаркинсонизма была выполнена на самцах крыс линии Wistar, которые были поделены на три группы: группа ложнооперированных крыс, группа 6-OHDA (группа крыс с введённым нейротоксином). Модель 6-OHDA-индуцированного гемипаркинсонизма основана на однократном стереотаксическом введении нейротоксина в компактную часть чёрной субстанции. Через месяц после введения нейротоксина моторные нарушения животных исследовались в тестах "Ротарод", "Регистрация спонтанной активности передних конечностей (Цилиндр)", "Ротаметр". Немоторные нарушения животных оценивались в тестах "Открытое поле", "Социальный интерес", "Резидент-Интродер", "Условная реакция пассивного избегания". "Предпочтение раствора сахарозы (Ангедония)". Далее животные из группы 6-OHDA были отобраны для лечения препаратом Леводопа и через месяц после начала терапии тесты на моторные и немоторные нарушения были проведены повторно. После тестов на моторные и немоторные нарушения животных декапитировали и извлекали головной мозг для оценки протукции белка тирозингидроксилазы и экспрессии гена BDNF. Продукция белка тирозингидроксилазы оценивалась методом иммуногистохимического анализа. Экспрессия гена BDNF оценивалась в стриатуме, среднем мозге и гиппокампе методом ПЦР в реальном времени.

По результатам исследования было показано, что терапия L-DOPA частично нивелировала моторные нарушения в половине случаев, что является сопоставимым с клиническими данными. В области повреждения компактной части s.nigra снижена продукция тирозингидроксилазы, что является показателем разрушения дофаминергических нейронов, экспрессия гена BDNF значительно снижена в стриатуме, что является показателем развития депрессивно-подобных черт поведения.

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА ВОЗРАСТНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ НМДА-РЕЦЕПТОРОВ КРЫС

Курмашова Е.Д., Гатаулина Э.Д.

*Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия
Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Россия*

Гомоцистеин (ГЦ), серосодержащая аминокислота, образуется в качестве промежуточного звена в метаболизме метионина. Пищевой дефицит кофакторов или генетические мутации и нарушение активности ключевых ферментов в метаболическом пути гомоцистеина вызывают его накопление в плазме ($>15\text{мкМ/л}$), что приводит к гипергомоцистеинемии (ГГЦ)[1]. Пренатальная ГГЦ может приводить к таким последствиям, как фетоплацентарная недостаточность, отслоение плаценты, поздний гестоз беременных, внутриутробная смерть плода. Известно, что ГЦ и его производные являются агонистами, действующим через сайты связывания глутамата в НМДА рецепторах [2], а также гомоцистеин приводит к снижению поверхностной экспрессии субъединицы GluA2-AMPA рецепторов в нейронах, но не влияет на поверхностную экспрессию субъединицы GluA1[4]. Кроме того, относительно высокие концентрации ГЦ (выше 1 мМ/л) могут конкурировать с глицином за сайты связывания коагонистов НМДА рецепторов.

Целью данного исследования стало изучить влияние пренатальной ГГЦ на НМДА-опосредованные токи в пирамидальных нейронах гиппокампа крыс в ранний постнатальный период.

Эксперименты проводились на горизонтальных срезах гиппокампа крысят (P3–P7, где P0-день рождения). Опосредованные токи пирамидных нейронов регистрировали методом пэтч-кламп, в режиме «целая клетка» с фиксацией потенциала на -70мВ для регистрации НМДА ответов в и $+40\text{мВ}$ -AMPA ответов для дальнейшего анализа соотношения. Фиксировались амплитуда каждого вызванного ответа и площадь каждой записи измерялась интеграцией

после обнуления базовой линии. Крысята с пренатальной ГГЦ были рождены от крыс, получавших ежедневно метионин с пищей, начиная за 3 недели до беременности и спустя 2 недели после родов. Концентрация гомоцистеина в плазме крови контрольных животных составляла 7 ± 1 мкМ ($n = 14$). У экспериментальной группы происходило значительное увеличение концентрации- 30 ± 5 мкМ ($n = 14$).

Важной проблемой в понимании нейрональных цепей является регуляция функции и относительного количества рецепторов НМДА и АМПА в возбуждающих синапсах. Поскольку эти рецепторы имеют различную кинетику (АМПА, 2–7 мс; НМДА, 50–100 мс), НМДА рецепторы важны для Ca^{2+} -зависимой пластичности и обучения, отношение НМДА рецепторов, опосредованного к АМПА рецепторные опосредованные токи в возбуждающих синапсах вероятно, будет ключевым фактором, определяющим как краткосрочную интеграцию синаптических входов пирамидных нейронов гиппокампа и их долгосрочные модификация [3].

Анализ синаптических токов, вызванных активацией глутаматных рецепторов, показал, что пренатальная ГГЦ снижает соотношения АМПА и НМДА рецепторов, следовательно, происходит подавление их активности. В условиях пренатальной ГГЦ на 5-7 сутки наблюдается резкое снижение соотношения АМПА и НМДА ответов с $0,48 \pm 0,07$ в контроле до $0,21 \pm 0,06$ ($n=9$) ($p>0.05$). Аналогичная тенденция наблюдается на вторую неделю постнатального развития (P8-10) в контрольных условиях соотношение составило $0,89 \pm 0,1$, в то время как в условиях пренатальной ГГЦ $0,39 \pm 0,09$ ($n=16$) ($p>0.05$).

Также нами была проанализирована амплитуда вызванных синаптических ответов. Полученные данные показали явное увеличение амплитуды НМДА ответов в условиях пренатальной ГГЦ. При фиксации потенциала клетки на +40мВ наблюдалось достоверное увеличение амплитуд как в первые 3-4 дня постнатального развития (контроль- $26,7 \pm 6$ пА), так и в 5-7 дней (ГГЦ- 37 ± 6 пА) ($p>0.05$).

Таким образом, в данной работе было показано, что хроническое воздействие ГЦ приводило к возрастному изменению соотношения рецепторного состава, а также к увеличению активации НМДА рецепторов. Гомоцистеин, метаболит метионинового цикла, является известным агонистом подтипов N-метил-D-аспартат-глутаматного рецептора и участвует в опосредованной нейротоксичности [4].

Работа поддержана грантом РФФИ 18-015-00423 А

Список литературы.

1. Obeid, R., & Herrmann, W. // FEBS Letters 2006. V.580(13). P.2994–3005.
2. Sibarov, D. A., & Antonov, S. M. // Biochemistry (Moscow) 2018. V.83(10). P.1173–1183.
3. Bliss, T. V. P., & Collingridge, G. L. // Nature 1993. V.361(6407). P.31–39.
4. Poddar, R., Chen, A., Winter, L., Rajagopal, S., & Paul, S. // Journal of Neurochemistry. 2017. V.142(4). P.560–573.

ВЛИЯНИЕ 3-НИТРОПРОПИОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА АКТИВНОСТЬ КАЛЬПАИНОВ

Маршак А.З.¹, Пестерева Н.С.², Карпенко М.Н.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

3-нитропропионовая кислота (3-НПК) - это токсичное соединение, обнаруженное во многих грибах и растениях, которые используют ее как защитный механизм от травоядных. Показано, что добавление к выделенным нервным окончаниям – синапсосомам - 3-нитропропионовой кислоты вызывает дозозависимое снижение потребления ими кислорода,

при этом продукция лактата увеличивается, возрастает также отношение лактат/пируват, снижается содержание АТФ. Кроме этого, наблюдается снижение активности сукцинатдегидрогеназы в три раза, увеличение активности СОД в 1,8 раза и ингибирование МАО-А, приводящее к накоплению в синапсе дофамина и, в условиях недостатка АТФ (нарушается упаковка дофамина в везикулы), увеличению содержания высоко реакционноспособного ДА-квинона в синаптическом окончании. В связи с этим, 3-НПК используют для моделирования нарушений дофаминергической передачи, например, при дофамин-зависимой дистонии [1, 2]. Одним из звеньев патогенеза заболеваний, вызванных гибелью дофаминергических нейронов, является активация внутриклеточных цистеиновых кальций-зависимых протеаз – кальпаинов [4]. Известно 15 генов, кодирующих кальпаин-подобные белки, которые образуют различные изоформы кальпаина, отличающихся субстратной специфичностью. Основные, наиболее распространенные представители семейства кальпаинов, - μ -кальпаин и m -кальпаин, они широко представлены в клетках ЦНС [3].

Целью данной работы было изучить активность m -кальпаина и μ -кальпаина в различных отделах мозга крыс при курсовом внутрибрюшинном введении 3-НПК.

Эксперимент проводился на крысах линии Wistar. Экспериментальная группа получала внутрибрюшинно инъекции 3-НПК в дозе 20 мг/кг веса животного в день на протяжении 5-ти дней ($n=5$); контрольная группа ($n=5$) - инъекции физиологического раствора в соответствующем объеме и по той же схеме. У животных каждый день анализировалась масса тела и проводился неврологический осмотр. На восьмой день после первой инъекции животные подвергались эвтаназии путем декапитации, из мозга извлекались стриатум, гиппокамп, черная субстанция и фрагмент четырехглавой мышцы бедра (кальпаины присутствуют в мышечной ткани и их активность изменяется при развитии мышечной дистонии). Далее, в выделенных структурах при помощи метода казеиновой зимографии была исследована активность m -кальпаина и μ -кальпаина. С целью контроля содержания дофамина в стриатуме его уровень был измерен методом ВЭЖХ с электрохимическим детектором. Статистическая обработка данных проводилась в программе Statistica 10.0. Нормальность распределения проверялась критерием Шапиро-Уилка. Данные выражали как среднее \pm ошибка среднего. Гипотеза о равенстве математических ожиданий проверялась критерием Стьюдента, равенство дисперсий контролировалось с помощью критерия Фишера. Нулевая гипотеза отвергалась при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Оказалось, что курсовое введение 3-НПК крысам приводит к выраженному снижению массы тела животных. На пятый день введения препарата крысы теряли до 30% от первоначальной массы. Неврологические нарушения наблюдались только у одного животного: развивалась мышечная слабость, затем парез задних конечностей; наблюдалась «ходьба по кругу». Оказалось, что в клетках стриатума, вопреки нашим ожиданиям, активность кальпаинов по сравнению с контролем увеличена не была. В гомогенате клеток черной субстанции у трех животных из пяти мы наблюдали увеличение активности m -кальпаина, примерно на (35-40) % относительно контроля. В клетках гиппокампа детектировалась повышенная активность обеих изоформ кальпаина. При этом в гомогенате клеток четырехглавой мышцы бедра активность m -кальпаина была увеличена только у одного животного.

Список литературы.

1. Brouillet E. et al. // *Neurochem.* 2005. P.1521-40.
2. Francis K. et al. // *IUBMB Life.* 2013. V.65(9). P.759-768.
3. Goll D.E., et al. // *Physiol Rev.* 2003. V.83(3). P.731-801.
4. М.Н. Карпенко // *Медицинский академический журнал.* 2016. Т.16(4). С.131-134.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОДУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ ОКСИДОМ АЗОТА В СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ

Моисеев К.Ю.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Оксид азота (NO) выполняет роль внутриклеточного и межклеточного посредника в нервной, иммунной и эндокринной системе. Важнейшей физиологической мишенью для NO является растворимая гуанилатциклаза, катализирующая биосинтез цГМФ. [1]. В нейронах автономной нервной системы в постнатальном онтогенезе происходят изменения медиаторного состава, электрофизиологических характеристик нейронной активности [2, 3]. Тем не менее, возрастные аспекты синаптической передачи в автономной нервной системе с участием NO остаются неясными.

Целью исследования явилось изучение влияния донора и ингибитора NO на синаптическую передачу в симпатических узлах в постнатальном онтогенезе.

Методы исследования. Синаптическая передача в симпатических узлах исследовалась электрофизиологически *in vitro*. Исследованию подвергался краниальный шейный симпатический ганглий (КШГ) крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние). Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил. Исследовалось изменение амплитуды и длительности ВПСП в КШГ при электрической стимуляции под влиянием экзогенного донора NO - нитропруссид натрия (NH), блокатора синтеза NO (L-NAME), активаторов протеинкиназы G - дб-цГМФ, 8Br-цГМФ и ингибитора растворимой гуанилатциклазы – ODQ.

Результаты показали, что в КШГ аппликация NH и активаторов протеинкиназы G приводила к увеличению амплитуды вызванных потенциалов, которое достигало максимума через 10 мин у 10-суточных и более взрослых крыс. Это увеличение амплитуды полностью устранялось под влиянием L-NAME в течение 30 мин. Данные об изменении амплитуды ВПСП нейронов КШГ при внутриклеточной регистрации полностью соответствуют данным, полученным при регистрации внеклеточных потенциалов. Амплитуда ВПСП увеличивалась под влиянием NH, активаторов протеинкиназы G и уменьшалась под влиянием L-NAME и ингибитора растворимой гуанилатциклазы у 10-суточных и более взрослых крыс.

Установлено, что в экспериментах *in vivo* 10 мин аппликация NH, дб-цГМФ, 8Br-цГМФ вызывала увеличение средней амплитуды разрядов, увеличение мощности частот в диапазоне дыхания (0,7-1,5 Гц), и частот в диапазоне 10-14, 22-32 Гц у 10-суточных и более взрослых крыс. При аппликации L-NAME и ODQ в течение 1 часа происходило уменьшение мощности всех частот спектра. Частота фоновой импульсации увеличивалась с $1,1 \pm 0,2$ имп/с в контроле до $2,3 \pm 0,3$ имп/с под влиянием NH и уменьшалась до $0,5 \pm 0,1$ имп/с при аппликации L-NAME у взрослых крыс. Сходные изменения наблюдались у 10-суточных и более взрослых. NH, L-NAME, дб-цГМФ, 8Br-цГМФ и ODQ не влияли на характер электрической активности у новорожденных крысят.

Выводы. NO оказывает активирующее действие на синаптическую передачу в симпатических узлах крыс с 10 суток жизни. Действие NO при этом связано с активацией растворимой гуанилатциклазы. Отсутствие значимого влияния NO на синаптическую передачу у новорожденных крыс связано с отсутствием фермента синтеза NO – NO синтазы в этом возрасте в симпатических волокнах.

Работа поддержана РФФИ, грант 16-04-00538.

Список литературы.

1. Ситдикова Г.Ф., Зефиоров А.Л. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2006. Т.92(7). С.872-882.
2. Маслюков П.М. // Рос. Физиол. Ж. им. И.М.Сеченова. - 2000. - Т.86(6). С.703–710.
3. Masliukov P.M., Fateev M.M., Nozdrachev A.D. // Auton. Neurosci. 2000. V.83. P.12-18.

ВЛИЯНИЕ БЕНЗАПЕНТАТИЕПИНА ТС-2153 НА ПОВЕДЕНИЕ И СТРИАТУМ-СПЕЦИФИЧНУЮ ТИРОЗИНОВУЮ ПРОТЕИНФОСФАТАЗУ (СТЕР) В МОЗГЕ У КРЫС, СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ ПО РЕАКЦИИ НА ЧЕЛОВЕКА.

Москалюк В.С.^{1,2}, Кожемякина Р.В.², Науменко В.С.², Куликова Е.А.²

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Изучение молекулярных механизмов агрессивного поведения и доместикации является актуальной задачей. В Институте цитологии и генетики СО РАН в Новосибирске на протяжении 85 поколений ведется отбор на высокий и низкий уровень агрессии по отношению к человеку. В результате этого отбора были получены две линии крыс: агрессивные и ручные. Данные уникальные линии различаются по поведению, морфологическим признакам, состоянию медиаторных, нейротрофических и гормональных систем организма [1].

В тоже время роль белков внутриклеточной трансдукции на этих моделях достаточно слабо изучена. В последнее время особое внимание уделяется белку-стриатум-специфичной тирозиновой протеинфосфатазе (СТЕР- striatal enriched tyrosine protein phosphatase).

СТЕР кодируется геном *Ptpn5* и присутствует в нейронах в двух основных изоформах: СТЕР46 и СТЕР61. Данный фермент участвует в регуляции большого числа сигнальных каскадов, дефосфорилируя и тем самым дезактивируя белки по тирозиновому основанию. Таким образом, нарушение работы этого белка приводит к развитию нейродегенеративных заболеваний [3]. В связи с этим исследование фармакологического влияния на данный фермент является актуальной задачей. В Новосибирском институте органической химии был синтезирован ингибитор СТЕР - бензапентатиепин ТС-2153. Данный препарат характеризуется выраженными психотропными эффектами. Было показано, что он оказывает антидепрессантное действие [4]. Известно, что клинически эффективные антидепрессанты оказывают антиагрессивный эффект [2]. Однако роль белка СТЕР в агрессивном поведении и коррекция этого типа поведения с помощью ТС-2153 еще не были изучены.

Целью данной работы было исследовать влияние острого введения ТС-2153 на поведение и экспрессию белка СТЕР у крыс, селекционированных на ручное и агрессивное по отношению к человеку поведение.

Исследования проводились на шестимесячных самцах серых крыс. Животным, 30 ручным и 30 агрессивным, вводили ингибитор СТЕР (ТС-2153) в дозировках 10 или 20 мг/кг, контрольным животным вводили растворитель. За 48 часов до укола реакцию животных по отношению к человеку оценивали в тесте «перчатка». Через 3 часа после укола животных повторно оценивали в тесте «перчатка», а затем проводили тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Через 2 часа животные были выведены из эксперимента, и у них были выделены структуры мозга: средний мозг, гиппокамп и гипоталамус. Методом ОТ-ПЦР был исследован уровень мРНК гена *Ptpn5* с помощью двух пар праймеров: одна к участку, кодирующему обе изоформы СТЕР, другая—только СТЕР61. Уровни белков СТЕР46 и СТЕР61 были измерены методом Вестерн Блот.

ТС-2153 в дозировке 20 мг/кг снизил уровень выраженности агрессии у агрессивной линии. В то же время препарат не повлиял на дружелюбное поведение ручных животных. Ручные крысы показали сниженный уровень тревожности по сравнению с агрессивными в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Более того, ТС-2153 в дозировке 20 мг/кг снизил уровень тревожности у обеих линий животных. Было показано, что у агрессивных крыс по сравнению с ручными повышен уровень мРНК гена *Ptpn5* в гиппокампе, тогда как ТС-2153 снижал данный показатель. Уровень белка СТЕР61 не отличался ни в одной из исследованных структур. В то же время уровень белка СТЕР46 достоверно снижен у ручных животных в среднем мозге, гиппокампе и гипоталамусе. Более того, ТС-2153 снизил уровень белка данной изоформы в гипоталамусе и среднем мозге агрессивных крыс, но не повлиял на уровень белка СТЕР61.

Таким образом, в данной работе было впервые показано участие стриатум-специфичной тирозиновой фосфатазы в механизмах агрессии, а также был выявлен антиагрессивный и анксиолитический эффекты препарата ТС-2153.

Работа поддержана Бюджетным проектом № 0259-2019-0002 и грантом РНФ 17-15-01032.

Список литературы.

1. Маркель, А.Л. // Современные концепции эволюционной генетики 2000. С.103 – 114.
2. Bond, A.J. // European Journal of Pharmacology. 2005. V.526. P.218–225.
3. Karasawa, T., Lombroso, P.J. // Neuroscience Research. 2014. V.89. P.1–9.
4. Kulikova, E.A., Khotskin, N.V., Illarionova, N.B. et al. // Neuroscience. 2018. V.394. P.220–231.

ДИНАМИКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРОЛАКТИНА И ЕГО РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ САМОК ТРЁХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS* ПРИ 24-ЧАСОВОЙ ПРЕСНОВОДНОЙ АДАПТАЦИИ

Павлова Н.С.¹, Неретина Т.В.^{1,2}, Смирнова О.В.¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Беломорская биологическая станция им. Н.А. Перцова, Россия

Трёхиглая колюшка *G. aculeatus* – один из видов рыб, которым характерно как родительское поведение, так и пластичность осморегуляторной функции во время миграции в пресную воду во время нереста. Изучение особенностей влияния пролактина, гипофизарного гормона, который у рыб вовлечён в регуляцию обеих этих функций, актуально для более глубокого, фундаментального понимания эволюции и дивергенции его функций. Пролактин, у млекопитающих классически ассоциированный с более выраженными эффектами у самок, нежели у самцов, и его рецепторы являются интересным предметом изучения у колюшек. Ранее в нашей лаборатории было показано увеличение экспрессии гена пролактина (*Prl1*), но не пролактинподобного гормона (*Prl2*) в мозге самок трёхиглой колюшки при трёхсуточной пресноводной адаптации в сравнении с контрольными животными. Это увеличение экспрессии *Prl1* сопровождалось повышением гепатосоматического индекса, коррелирующим с эстрогенной активностью, а также увеличением экспрессии в мозге генов пролактиновых рецепторов *PrlRa* и *PrlRb*. Тем не менее, динамика изменения данных параметров в первые сутки пресноводной адаптации для самок трёхиглой колюшки до сих пор оставалась неизвестна. Согласно работам, проведённым на других видах рыб (без разделения животных по полу), при пресноводной адаптации рыб изменение экспрессии генов пролактина наблюдается в первые сутки, а пролактиновых рецепторов – на вторые или третьи сутки после перехода или пересадки рыб в пресную воду из морской. Целью данной работы стало сравнение изменения уровней экспрессии генов пролактинов (*Prl1*, *Prl2*) и их рецепторов (*PrlRa*, *PrlRb*) в мозге самок *G. aculeatus* при 24-часовой пресноводной адаптации. В данной работе самки трёхиглой колюшки, пойманные в морской воде в Ругозёрской губе Белого моря, содержались в 20-литровых аквариумах с аэрацией. По прошествии суточной адаптации к условиям эксперимента морскую воду в аквариумах замещали на пресную. По прошествии 1, 3, 6, 12, 18 и 24 часов животных декапитировали, выделяли их мозги вместе с гипофизом и фиксировали в IntactRNA (Evrogen, Россия). Далее из мозгов выделяли РНК и с использованием метода количественной ПЦР в реальном времени измеряли уровни мРНК генов пролактина *Prl1* и *Prl2*; в качестве референсных генов использовали *ubc* и *rpl13a*. В каждой группе (всего 12 групп) было по шесть животных. Результаты обрабатывали в программе GraphPad Prism 6 с использованием two-way ANOVA с поправкой Tukey. В данной работе показано, что у самок колюшек уровни мРНК гена *Prl1* достоверно выше при 24-часовой адаптации в сравнении с 1-, 3- и 6-часовой пресноводной адаптации ($p=0,0017$; $p=0,0241$; $p=0,0049$ соответственно). Достоверных отличий в экспрессии генов *Prl2*, *PrlRa* и *PrlRb* в мозге самок обнаружено не было. Таким образом, при суточной пресноводной

адаптации у самок достоверно увеличиваются уровни мРНК только гена *Prl1*, но не *Prl2*, *PrlRa*, *PrlRb*. Это свидетельствует о наличии у самок колюшек характерной другим видам рыб динамики экспрессии *Prl1*, и отставленной динамике изменения экспрессии *PrlRa*, *PrlRb*. В данном исследовании впервые изучена динамика экспрессии генов пролактинов и их рецепторов в мозге самок колюшек во время суточной адаптации к пресной воде, и доказано повышение экспрессии гена пролактина в мозге в первые сутки пресноводной адаптации. Данное исследование детализирует особенности изменения пролактиновой оси у самок колюшки при пресноводной адаптации, и может стать основой для дальнейшей детализации механизмов пролактиновой регуляции у *G. aculeatus*.

МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Гомоцистеин – это серосодержащая аминокислота, продуцируемая в ходе метаболизма метионина. Концентрация гомоцистеина регулируется двумя основными метаболическими реакциями: реметилирование обратно в метионин или транссульфирование до цистеина с одновременным выделением сероводорода (H_2S). Повышение уровня гомоцистеина в плазме может быть вызвано дефицитом витаминов группы В (В12, фолиевой кислоты, В6), генетическими мутациями ферментов метаболизма гомоцистеина, избытком метионина и нарушения выделительной функции, приемом некоторых лекарственных препаратов. Кроме того, показано, что увеличение уровня гомоцистеина при старении. Гипергомоцистеинемия приводит к различным системным и неврологическим заболеваниям, является фактором риска атеросклероза, сердечно-сосудистых заболеваний, гипертензии, диабета. Гипергомоцистеинемия во время беременности приводит к серьезным патологиям, таким как преэклампсия, отслойка плаценты, тромбоз эмболия, дефекты нервной трубки и внутриутробная задержка роста. Ряд модельных исследований на грызунах с пренатальной гипергомоцистеинемией свидетельствует о физических и неврологических нарушениях развития потомства на ранних и поздних этапах онтогенеза. Популяционные исследования свидетельствуют о повышении риска эпилепсии, мигрени, ишемического инсульта при повышении уровня гомоцистеина в плазме. Окислительный стресс является одним из распространенных механизмов нарушений, вызванных действием гомоцистеина. окислительный стресс, эндотелиальные дисфункции, гиперактивация НМДА рецепторов и гипометилирование ДНК, а также повышение уровня кальция, вызывающего апоптоз. Недавно было обнаружено, что один из трех газотрансмитеров - H_2S оказывает нейропротекторное действие во многих системах организма и синтез H_2S снижается в условиях гипергомоцистеинемии. Оказалось, что донор H_2S в экспериментальной модели вызывает улучшения показателей развития потомства, поведенческих эффектов, снижает уровень окислительного стресса и восстанавливает активность антиоксидантных ферментов

РЕГУЛЯЦИЯ УРОВНЯ GAP-43 В ЦНС ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ

Тютюнник Т.В.^{1,2}, Майстренко В.А.¹, Карпенко М.Н.^{1,2}

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

ВВЕДЕНИЕ. Белок GAP-43 (growth-associated protein-43) является нейроспецифическим белком. В нейронах этот белок локализован на внутренней поверхности плазматической мембраны аксонных окончаний и связан с липидными рафтами [1]. Наивысший уровень продукции белка GAP-43 в мозге наблюдается во время эмбрионального и раннего постнатального развития, что связано с его участием в нейрито- и синаптогенезе. Во взрослом мозге детектируемом количестве GAP-43 содержится в синаптических окончаниях, преимущественно гипокампальных нейронов, что связано с максимальной эффективностью протекания пластических процессов в данной области ЦНС [2]. Повышение продукции GAP-43 в ЦНС могло бы способствовать интенсификации пластических/регенеративных процессов в мозге, что необходимо, например, при лечении инсультов. В этом отношении интересен дексаметазон - синтетический глюкокортикоидный препарат, оказывающий выраженное противовоспалительное и десенсибилизирующее действие. В медицине его, в основном, используют в качестве средства при отеках головного мозга, вызванных черепно-мозговой травмой, абсцессах мозга, при менингитах и энцефалитах, заболеваниях крови (лейкозах), при терапии злокачественных опухолей. Однако есть единичные работы о стимуляции дексаметазоном пластических процессов в мозге.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: выявить способность дексаметазона повышать продукцию GAP-43 в различных отделах ЦНС.

МЕТОДЫ. В работе исследовалось действие дексаметазона на уровень мРНК и белка GAP-43. Эксперимент проводили на 10 самцах крыс Wistar. Животных случайным образом разделили на 2 группы. Животным первой группы внутрибрюшинно вводили физиологический раствор (n=5); второй группе внутрибрюшинно вводили дексаметазон в дозе 8 мг/кг веса животного (n=5). Через 18 часов после введения животных декапитировали и извлекали стриатум, черную субстанцию и гиппокамп. Уровень мРНК GAP-43 определяли с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени, продукцию белка GAP-43 методом иммуоблоттинга. Кроме этого, методом ОТ-ПЦР в реальном времени был исследован уровень мРНК тирозингидроксилазы.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Оказалось, что через 18 часов после однократного внутрибрюшинного введения дексаметазона крысам в дозе 8 мг/кг веса наблюдается повышение уровня мРНК GAP-43 в клетках стриатума и черной субстанции в 2 раза, а в клетках гиппокампа - на 50% по отношению к контролю. Поскольку в этих областях мозга одними из преобладающих нейронов являются дофаминергические, мы проанализировали влияние введения дексаметазона на уровень мРНК тирозингидроксилазы. Оказалось, что ее содержание также повышается, примерно на 40% по отношению к контролю. При анализе содержания белка GAP-43 было выявлено его двукратное увеличение в стриатуме и черной субстанции, но не в гиппокампе, что свидетельствует об усилении пластических процессов в этих областях мозга.

ВЫВОДЫ. Введение дексаметазона в дозе 2 мг/кг веса животного приводит к увеличению уровня мРНК и белка GAP-43 в стриатуме и черной субстанции, что позволяет рассматривать дексаметазон как потенциальное противопаркинсоническое средство.

Список литературы.

1. Постникова, Л., Захаров, В., & Захарова, Ф. М. Исследование особенностей структуры, локализации и экспрессии нативно-развернутого белка GAP-43 в ооцитах и ранних эмбрионах мыши. 2018. P.49-51
2. М.Н. Богданова, В.В.Захаров. Сигнальные белки нервных окончаний gap-43 и basp1: исследование структурных и функциональных аспектов. 2002.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *Bdnf* В ГИППОКАМПЕ КРЫС ЛИНИЙ ВП И НП С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Хлебаева Д.А.-А.

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

Линии крыс с высокими (ВП) и низкими (НП) порогами возбудимости как периферических, так и центральных отделов НС – генетическая модель формирования постстрессорных патологических состояний под действием психоэмоционального стресса. У крыс этих линий обнаружена зависимость между уровнем возбудимости НС и проявлениями безусловно- и условно-рефлекторных характеристик поведения, стратегий поведения, изменения систем гормональной регуляции, метаболизма нейромедиаторов, нейроанатомических признаков [1]. Мы предположили, что эти линии могут различаться и по активности ряда генов в ЦНС, в частности, гена *Bdnf*. Нейротрофический фактор мозга (Brain-derived neurotrophic factor – *BDNF*) – нейротрофин, играющий важнейшую роль в регуляции нейрогенеза, синаптического морфогенеза, пластичности, обучения и памяти (в частности, травматической), реакции на стресс, формировании постстрессорных патологий нервной системы. С патогенезом стресс-зависимых заболеваний тревожного спектра связаны изменения экспрессии гена *Bdnf* и нарушения его эпигенетической регуляции в разных структурах мозга [2, 3].

Целью данной работы было исследование экспрессии гена *Bdnf* в гиппокампе крыс линий ВП и НП с генетически детерминированным различным уровнем возбудимости нервной системы.

Тотальную РНК из гиппокампа интактных крыс линий ВП и НП выделяли фенол-хлороформным методом. Далее проводили обратную транскрипцию, ПЦР с праймерами к белок-кодирующему экзону гена *Bdnf* и референсному гену *tbp*, электрофорез в агарозном геле. Анализ геля проводили с помощью программы ImageJ. Статистическую обработку полученных данных проводили по критерию Манна-Уитни в программе Past3.

В результате сравнения электрофореграмм обнаружен сходный уровень экспрессии гена *Bdnf* в гиппокампе интактных крыс линий ВП и НП. Таким образом, генетически детерминированный уровень возбудимости нервной системы не влияет на базальную активность гена *Bdnf* в гиппокампе. Далее планируется исследовать экспрессию гена *Bdnf* под влиянием стресса у крыс линий ВП и НП.

Список литературы.

1. Вайдо А.И., Ширяева Н.В., Павлова М.Б., и др. // Лабораторные животные для научных исследований. 2018. Т.3. С.12-23.
2. Roth T., Zoladz Ph., Sweatt D., Diamond D. // Journal of Psychiatric Research. 2011. V.45(7). P.919–926.
3. Stankiewicz A.M., Swiergiel A.H., Lisowski P. // Brain Research Bulletin. 2013. V.98. P.76-92.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ УСИЛИВАЕТ КОРТИКАЛЬНУЮ РАСПРОСТРАНЯЮЩУЮСЯ ДЕПРЕССИЮ В НЕЙРОНАХ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ КРЫС

Шахматова В.И., Яковлев А.В.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Гомоцистеин (Гц) представляет собой серосодержащую аминокислоту, синтезируемую в организме из незаменимой аминокислоты метионина путем реакции трансметилирования. Пути метаболизма Гц требуют участия витаминов (фолатов, витаминов В6 и В12, флавинадениндуклеотидов) в качестве кофакторов или субстратов ферментов. Однако, вследствие метаболических или генетических нарушений происходит накопление Гц в крови

и цереброспинальной жидкости, называемое гипергомоцистеинемией [1]. Имеются данные о взаимосвязи уровня Гц и частоты возникновения приступов мигрени у человека [2]. Кортикальная распространяющаяся депрессия (CSD) является феноменом, лежащим в основе возникновения мигрени с аурой. Повторяющиеся регулярные/длительные CSD, часто наблюдающиеся после инсультов, черепно-мозговых травм, мигрени с аурой, могут играть ключевую роль в патофизиологических механизмах повреждения головного мозга, повышая уязвимость различных популяций нейронов [3]. Кроме того, гипергомоцистеинемия может усиливать чувствительность нервной ткани к распространяющейся кортикальной депрессии посредством окислительного стресса и запуска воспалительного ответа [4].

Целью настоящего исследования было исследование кортикальной распространяющейся депрессии в соматосенсорной коре у крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией *in vitro*. Для создания модели экспериментальной пренатальной гипергомоцистеинемии беременным самкам крыс линии Wistar вводили в пищевой рацион метионин в концентрации 7 г/кг массы животного. Нагрузку метионином проводили в течение 5-6 недель до беременности, при констатации у животных беременности и после появления потомства в течение 2 недель [5]. Эксперименты проводились на таламокортикальных срезах мозга крыс (P17-P28, где P0 – день рождения). Внеклеточная регистрация CSD проводилась в 4-ом слое соматосенсорной коры с использованием усилителя Axoclamp 15A (Axon Instruments), оцифрованного Digidata144A.

CSD индуцировалась путем применения 25 мМ KCl. Анализировалось время развития CSD, амплитуда и длительность CSD в контрольной и экспериментальной группе. Групповые данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка.

Апликация 25 мМ KCl в перфузируемый раствор вызывала отрицательный сдвиг постоянного тока - кортикальную распространяющуюся депрессию в 4 слое соматосенсорной коры крысы. Средняя амплитуда и длительность CSD в контрольной группе составили 4.5 ± 2 мВ и 3.5 ± 2 мин ($n = 11$), соответственно. У животных с пренатальной гипергомоцистеинемией наблюдалось значительное изменение параметров CSD. Так амплитуда и длительность CSD у экспериментальной группы животных увеличивались до 6.4 ± 1 мВ и 6.1 ± 1 мин ($n = 12$; $p < 0.05$) соответственно, относительно контроля. Было установлено снижение латентного периода с 2.1 ± 1 до 0.6 ± 0.2 мин ($n = 18$, $p < 0.05$) увеличение вероятности возникновения CSD у животных с пренатальной гипергомоцистеинемией с 64 до 83 %.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о повышенной чувствительности нейронов соматосенсорной коры крыс ткани к развитию кортикальной распространяющейся депрессии в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии.

Список литературы.

1. Troen A. M. // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2005. V.29.(7). P.1140-1151.
2. Lea R. // Pharmacogenet Genomics. 2009. V.19. P.422-428.
3. Bramlett H. M. // Journal of neurotrauma. 2015. V.32(23). P.1834-1848.
4. Moretti R. // Int J Mol Sci. 2019. V.20(1). P.231-243.
5. Gerasimova E.V // Bionanoscience. 2017. V.7(1). P.155-158.

ВЛИЯНИЕ ТИОЛОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГОМОЦИСТЕИНА НА СПОНТАННУЮ СЕТЕВУЮ АКТИВНОСТЬ ГИППОКАМПА НОВОРОЖДЁННЫХ КРЫСЯТ

Яковлев А.В., Шахматова В.И., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, в высоких концентрациях обладающая нейротоксическими эффектами и вызывающая нарушения развития нервной системы.

Гомоцистеин в плазме крови быстро окисляется, образуя дисульфидные связи с белками и другими низкомолекулярными тиолами, а также преобразуется в гомоцистеин тиолактон. Поэтому при хроническом воздействии нейротоксичность гомоцистеина опосредуется преимущественно его производными. Целью нашей работы было исследование влияние гомоцистеина и его производных - гомоцистина и гомоцистеина-тиолактона на сетевую и популяционную активность нейронов гиппокампа крыс в первую неделю после рождения. Гигантские деполяризующие потенциалы (ГДП) и множественные потенциалы действия (МПД) регистрировали с использованием внеклеточного электрода в СА3 зоне гиппокампа. Оказалось, что все три исследованных соединения вызывали увеличение частоты ГДП и МПД в концентрациях 100 и 500 мкМ, при этом гомоцистин оказывал наиболее значительное повышение сетевой и популяционной активности. В условиях блокирования НМДА и АМПА-рецепторов эффекты гомоцистеина, гомоцистина и гомоцистеин-тиолактона на спонтанную сетевую активность нейронов полностью снимались. Таким образом, гомоцистеин и его производные приводят к усилению сетевой и популяционной активности нейронов гиппокампа неонатальных крыс, что может вызывать нарушения формирования нейрональных сетей гиппокампа в условиях хронической гипергомоцистеинемии, а также вызывать гипервозбудимость и риск развития эпилепсии в постнатальный период.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-015-00423.

АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МЫШЦАХ МЫШЕЙ С НАРУШЕННЫМ МИКРОБИОТОМ

Яковлева О.В., Арсланова А.Н., Яруллина Д.Р., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Микробиота кишечника состоит из сложного видового сообщества микроорганизмов, которые населяют желудочно-кишечную экосистему и чьи изменения влияют не только на различные расстройства кишечника, но и на заболевания центральной нервной системы (ЦНС), в том числе и сопряженных с нарушением когнитивных функций человека и животных [1]. Хотя связанные с человеком микробные сообщества стабильны, они могут быстро изменяться вследствие экзогенных причин, например, антибиотикотерапии, и под действием эндогенных факторов, например, стресса [1]. Представление о двунаправленной связи между мозгом и микробиотой, а также определение роли конкретных пробиотических бактерий и их комбинаций в данном взаимодействии позволит разработать функциональные диеты и использовать кишечный микробиом с целью улучшения результатов фармакологической терапии многих неврологических заболеваний.

Целью данной работы является оценка влияния сдвигов в кишечном микробиоме, вызванных введением антибиотиков и/или пробиотиков на основе лактобацилл, на поведение у лабораторных мышей.

В работе использовали половозрелых белых мышей-самцов массой 15-20 г, которых содержали в условиях вивария КФУ с естественным световым режимом на полнорационной сбалансированной по содержанию питательных веществ диете для лабораторных животных, согласно ГОСТ Р50258-0092.

Животные разделялись на 3 группы:

1 группа - контрольная (К, n=15), получавшая инъекции физиологического раствора;

2 группа - антибиотики (АБ, n=15), получавшая инъекции коктейля антибиотиков;

3 группа - лактобациллы (АБ+ЛБ, n=15), получавшая инъекции антибиотиков совместно с суспензией лактобацилл объемом 1 мл пероральным путем.

Для определения функциональных изменений конечностей мышей проводились тесты «Ротарод» и «Сила хватки» [2, 3]. С помощью классических спектрофотометрических методов проводили анализ активности глутатионпероксидазы, содержания малонового диальдегида в мышцах задних конечностей мышей [4].

У мышей из группы антибиотиков наблюдается меньшее время пребывания на вращающемся цилиндре, которое составляет 79 ± 12 сек ($n=15$, $p \leq 0,05$), в то время как мыши контрольной группы (121 ± 10 сек) и группы лактобацилл (111 ± 11 сек) продемонстрировали удовлетворительную результативность. В тесте «Сила хвата» у группы мышей, введенным антибиотиками, снижено время нахождения на проволочной сетке (36 ± 7 сек; $p \leq 0,05$) в то время, как показатели контрольной группы составляют 59 ± 10 сек, а у группы, получавшей лактобациллы (71 ± 28 сек; $p \leq 0,05$).

В группе АБ было отмечено достоверное уменьшение активности глутатионпероксидазы в мышечной ткани (0.46 ± 0.05 мкМ/мл/мин, $n=15$, $p < 0.05$) по сравнению с активностью в тканях контрольных животных (0.22 ± 0.03 мкМ/мл/мин, $n=15$) и АБ+ЛБ группы (0.37 ± 0.05 мкМ/мл/мин, $n=15$). При этом наблюдали повышенное содержание малонового диальдегида в тканях АБ группы (0.27 ± 0.01 мкМ, $n=15$, $p < 0.05$) по сравнению с содержанием в анализируемых тканях контрольных животных (0.19 ± 0.01 мкМ, $n=15$) и группы АБ+ЛБ (0.20 ± 0.02 мкМ, $n=15$).

Таким образом, мы можем говорить, что у мышей с измененной микрофлорой наблюдается нарушение координации движений, силы и выносливости мышц конечностей, которое связано с увеличением оксидативного стресса в мышечной ткани.

Поддержано РФФИ 18-415-160005 p_a

Список литературы.

1. Thursby E. // *Biochem.* 2017. V.474. P.1823–1836
2. Karl T. Hörsten // *Exp Toxic Pathol.* 2003. V.55. P.69–83.
3. Weydt P. // *Neuroreport.* 2003. V.14(7). P.1051-1054.
4. Davies M.H. // *J Pharmacol Methods.* 1984. V.12(3). P.191-194.

СЕКЦИЯ «НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ: ИНТЕГРАТИВНЫЕ АСПЕКТЫ»

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНИЕ И ЭКСПРЕССИЮ BDNF

Абрамова О.В.¹, Зубков Е.А.¹, Зоркина Я.А.¹, Павлов К.А.¹, Морозова А.Ю.¹, Чехонин В.П.^{1,2}

¹НМИЦ ПН им. В.П. Сербского Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

Было изучено влияние пренатального стресса на поведение крыс, и на экспрессию мРНК нейротрофического фактора мозга (BDNF) в отделах мозга у взрослых животных.

Эксперимент был проведен на 10 самках крыс линии Sprague Dawley. Самок из экспериментальной группы (n=6) после оплодотворения отсаживали в индивидуальные клетки и подвергали эмоциональному стрессу, вызванному хроническим воздействием ультразвука (УЗ) переменных частот 20-45 кГц на протяжении всего периода беременности. Контрольных самок (n=4) содержали в стандартных условиях вивария в индивидуальных клетках. Потомство крыс от самок, подвергавшихся воздействию УЗ-стресса, состояло из 19 самцов и 16 самок. Количество животных, родившихся от контрольных крыс состояло из 8 самцов и 8 самок. Спустя два месяца после рождения проводили тестирование потомства крыс в следующей последовательности с интервалом 2 дня между тестами: тест на социальные интерес, тест предпочтения сахарозы, тест "Открытое поле", тест принудительного плавания по Порсолту, тест "Водный лабиринт Морриса".

В возрасте 3 месяцев животных декапитировали, выделяли структуры мозга (гиппокамп, миндалина, средний мозг и гипоталамус), и далее проводили количественный ПЦР-анализ экспрессии BDNF.

В тесте социальный интерес наблюдалось значительное снижение времени социальных контактов у самцов крыс после перенесенного пренатального УЗ-стресса (УЗ-потомство) по сравнению с контрольными самцами ($p=0,0008$). Для самок не было найдено статистически значимых различий во времени социальных контактов ($p=0,14$). Помимо этого, не было обнаружено различий в тесте предпочтения сахарозы и в тесте принудительного плавания по Порсолту. Таким образом, у УЗ-потомства не наблюдалось депрессивно-подобного поведения, однако были обнаружены нарушения в социальном взаимодействии. В тесте "Открытое поле" выявлена повышенная тревожность у самцов и самок из группы УЗ-потомства, по сравнению с контрольными животными. В тесте "Водный лабиринт Морриса" было обнаружено значительное нарушение пространственной памяти у УЗ-потомства по сравнению с контролем ($p=0,006$ для самцов и $p=0,008$ для самок).

У самцов из группы УЗ-потомства уровень экспрессии BDNF в миндалине был ниже по сравнению с контрольными самцами ($p=0,05$). В гиппокампе, среднем мозге и гипоталамусе различий в экспрессии обнаружены не были. Выявлена корреляция между уровнем мРНК BDNF в среднем мозге и показателями тревожного поведения (замирания, стойки, груминг, заходы в центр, пересечения квадратов) в тесте «Открытое поле» для самок и самцов контрольной и экспериментальной групп. У контрольных самцов экспрессия BDNF в среднем мозге положительно коррелирует со средней длительностью груминга в тесте «Открытое поле» ($r=0.82$, $p=0.02$) и отрицательно с общим временем замирания ($r=-0.81$, $p=0.02$). У самцов из УЗ-потомства уровень мРНК BDNF положительно коррелирует с количеством пересеченных квадратов ($r=0.68$, $p=0.02$), количеством стоек ($r=0.82$, $p=0.007$), количеством пересечений центра ($r=0.79$, $p=0.01$) и отрицательно с общим временем замирания ($r=-0.86$, $p=0.003$). Таким образом, у самцов из контрольной и экспериментальной группы, наблюдается корреляция между снижением тревожного поведения и увеличением экспрессии мРНК BDNF в среднем мозге. У контрольных самок наблюдается положительная корреляция экспрессии BDNF в среднем мозге с количеством пересечений квадратов ($r=0.83$, $p=0.04$) и отрицательная со средней длительностью груминга ($r=-0.94$, $p=0.005$). Для самок из группы УЗ-потомства отмечена положительная корреляция экспрессии с общим временем замирания ($r=0.85$,

$p=0.004$) и отрицательная с количеством пересеченных квадратов ($r=-0.68$, $p=0.04$) и общим временем груминга ($r=-0.70$, $p=0.03$). В отличие от самцов, у самок нет выраженной зависимости степени тревожности от уровня экспрессии мРНК BDNF в среднем мозге.

После воздействия пренатального стресса у крыс наблюдается нарушение когнитивных функций, повышенная тревожность, снижение социальных контактов, а также уменьшение экспрессии BDNF в миндалине у взрослых животных. Кроме того, была обнаружена корреляция уровня мРНК BDNF в среднем мозге с тревожным поведением.

ПАРАДОКСАЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ НА НАРКОЗ У КРЫС, НОКАУТНЫХ ПО ГЕНУ ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЁРА

Белов Д.Р.¹, Лакстыгал А.М.^{1,2}, Фесенко З.С.^{1,2}, Ефимов А.В.¹, Гайнетдинов Р.Р.^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербург, Россия

У DAT-крыс и мышей, нокаутных по гену дофаминавого транспортера, нарушен обратный захват дофамина из синаптической щели, что приводит к повышению внеклеточного дофамина при сниженном его общем содержании в мозговой ткани. У этих животных имеется гиперстимуляция дофаминовых рецепторов, которая проявляется в чрезмерной двигательной активности, расстройстве социальных взаимодействий, когнитивных дефицитах и тревожности, что подтверждено поведенческими тестами. Описанные нарушения ассоциируются с некоторыми формами шизофрении и с синдромом гиперактивности и дефицита внимания (СДВГ). Роль дофамина при шизофрении является общепризнанной.

Доказано, что у пациентов с шизофренией имеются отклонения в параметрах гамма-ритма ЭЭГ (30-100 Гц). По-видимому, они отражают когнитивные дефициты при шизофрении, т.к. гамма-ритм связан с правильной синхронизацией ритмики нейронов в разных областях, что важно для памяти, восприятия и сознания [1]. Основная цель исследования: методами электрофизиологии проверить, нет ли у DAT-крыс подобных конституциональных особенностей нейронального сигналинга, в частности - гамма-ритма

Запись ЭКоГ велась в острых опытах под золетилловым наркозом (тилетамином и золазепамом) с соматосенсорной коры при помощи плёнчатого мультиэлектродного массива Neuronexus E32-600-10-100 с 32-мя сайтами регистрации по 100 мкм (импеданс сайта 500 КОм) с интервалами 600 мкм. Он даёт устойчивую регистрацию гамма-ритма на малом масштабе даже под наркозом. Одновременно использовали 4 низкоомных винтовых электрода в разных областях коры, которые давали под наркозом медленную ритмику для контроля состояния животного в привычном виде и для более точной идентификации феноменов ЭКоГ, наблюдаемых на массиве Neuronexus.

Были исследованы 11 взрослых самцов «дикого типа» (Вистар) и 15 трансгенных особей – 8 гетерозигот и 7 полных нокаутов. У всех крыс под наркозом на массиве Neuronexus наблюдался гамма-ритм в виде двух различных паттернов. У части крыс были отчётливые модуляции в виде периодических спадов гамма-ритма и всех других частот почти до нуля, длительностью 0.2-1.0 с. В эту группу вошли 3 гетерозиготы, 6 нокаутов и 10 крыс Вистар (всего 19). У остальных крыс гамма-ритм был монотонным, без модуляций. Сюда вошли 5 гетерозигот, 1 нокаут и 1 Вистар (всего 7).

На винтовых электродах у крыс 1-й группы отмечался высокоамплитудный дельта-ритм 0-2 Гц, типичный для глубокого сна и наркоза, причём вспышки и спады гамма-активности приходились на определённые фазы дельта-волн. У крыс 2-й группы на винтовых электродах дельта-ритм отсутствовал, а наблюдалась более высокочастотная ЭКоГ наподобие состояния бодрствования. При анализе протоколов обнаружилось, что крысы без дельта-волн по разным причинам оперировались дольше – в среднем более, чем на час ($P<0.001$) по сравнению с

крысам, имеющими дельта-ритм и гамма-модуляции. Очевидно, что в первом случае происходило снижение глубины наркоза.

Крысы без дельта-ритма, успевшие частично выйти из-под наркоза, это в основном – трансгенные животные, а именно – гетерозиготы (5 из 7). Единственный Вистар, попавший в эту группу, был вообще самым долго оперируемым из всех обследованных крыс. Складывается впечатление, что наркоз действует на трансгенных крыс слабее, причём именно на гетерозиготных. Даже чисто визуально они засыпали хуже.

Группа с дельта-волнами поровну состоит из трансгенных крыс и дикого типа (9 и 10). Разницы по времени после укола между ними не было, и все описанные ниже различия между ними не объясняются фактором времени. У трансгенных крыс с дельта-волнами оказалась значимо ниже пространственная синхронизация в гамма-диапазоне 30-40 Гц, чем у с крыс Вистар с дельта-волнами ($P < 0.01$). Это указывает на дефицит межнейронной координации, но является ли он следствием глубины сна или конституциональным, говорить преждевременно. То же было ранее нами показано на крысах в состоянии бодрствования в хронических опытах с предположительной медикаментозной гипердофаминергией [3].

По данным винтовых электродов, чётко разделились разные генотипы DAT по спектральной мощности гамма- и дельта-ритмов. Гамма-мощность была значимо выше у гетерозигот по сравнению с диким типом и полными нокаутами ($P < 0.01$), причём два последних генотипа не отличались друг от друга. Дельта-мощность была аномально высокой у полных нокаутов по сравнению с гетерозиготами и диким типом ($P < 0.05$), сходных друг с другом по этому показателю. Со временем после укола это не связано. Вероятно, баланс возбуждения и торможения у гетерозигот и полных нокаутов нарушен существенно по разному, из-за чего и происходит «перекос» в пользу разных диапазонов.

По дофаминовой теории, при шизофрении имеется гиперстимуляция стриатума, вызывающая позитивные симптомы, и функциональная недостаточность коры, вызывающая когнитивные дефициты и негативные симптомы. По нашим данным, у гетерозигот по DAT наблюдается повышенный общий тонус, препятствующий наркозу, но при этом все DAT крысы демонстрируют дефицит межнейронной координации по показателю гамма-синхронизации. Таким образом, DAT крысы (особенно гетерозиготы) могут быть предложены в качестве животной модели шизофрении.

Список литературы.

1. Uhlhaas P.J., Singe W. // Nature Reviews Neuroscience. 2010. V.11. P.100-113.
2. Cash S. et al. // Science. 2009. V.324(5930). P.1084-1087.
3. Белов Д.Р., Фесенко З.С., Лакстыгал А.М. и др. // Росс. Физиол. журн. им. Сеченова. 2018. Т.104(11). С.1275-1290.

ВЛИЯНИЕ АПЕРИОДИЧЕСКОЙ ФОНОВОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ СПЕКТРА 1/F НА ПАРАМЕТРЫ РИТМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЛЕДНОГО ШАРА У БОЛЬНЫХ С ТОНИЧЕСКИМ И КЛОНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ДИСТОНИИ

Белова Е.М.¹, Семенова Ю.Н.¹, Медведник Р.С.¹, Попов В.А.^{1,2}, Томский А.А.²,
Седов А.С.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН), Москва, Россия*

²*Центр нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко, Москва, Россия*

Анализ ритмической активности нейронных популяций играет важную роль при исследованиях подкорковых структур у пациентов с двигательными расстройствами. Тем не менее, существующие на сегодняшний день методы анализа ограничиваются оценкой

спектральной мощности в типовых частотных диапазонах без учета аperiodической фоновой составляющей спектра $1/f$. Однако, в недавних исследованиях было показано, как включение в спектральный анализ аperiodической составляющей влияет на полученные данные и корреляцию симптомов болезни Паркинсона с бета частотой [1]. Более того, предполагается, что этот параметр отражает баланс между торможением и возбуждением нейронных популяций, а также степень фазово-частотной взаимосвязи (coupling) высоких и низких частот сигнала [2,3].

Целью настоящего исследования было сопоставление результатов анализа ритмической активности двумя разными методами: с учетом аperiodической фоновой составляющей спектра $1/f$ и без него. Предложенный подход дает возможность получить данные об информативности параметра $1/f$ для оценки выраженности симптомов дистонии и пациентов с различными формами этого заболевания, а также сопоставить значения параметров выраженности осцилляций в различных диапазонах и влияния аperiodической компоненты на эти параметры.

Мы исследовали ритмическую активность локальных потенциалов (LFP) бледного шара у 9 больных с тонической (4 пациента) и клонической (5 пациентов) формами цервикальной дистонии (ЦД). На первом этапе мы рассчитали средние значения LFP в типовых частотных диапазонах: тета (3-8 Гц), альфа (8-12 Гц), низкая бета (12-20 Гц), высокая бета (20-30 Гц) и гамма (30-60 Гц) без учета аperiodического шума. На втором этапе мы применили метод, позволяющий рассчитать выраженность частотных пиков по отношению к $1/f$ [4]. Таким образом, мы смогли сопоставить оценки выраженности осцилляций в каждом из диапазонов, полученные с применением двух указанных подходов.

Согласно полученным результатам, оба метода позволили выявить различия ритмической активности в трех частотных диапазонах: у пациентов с тонической формой ЦД мощность осцилляций была выше в тета-диапазоне, у пациентов с клонической формой – в альфа и нижнем бета диапазонах. Помимо этого, нам удалось выявить различия в аperiodической составляющей спектра: у пациентов с клоническими проявлениями ЦД она была выше по сравнению с тонической формой, что, вероятно, является следствием большей степени проявления патологического нарушения амплитудно-фазовой взаимосвязи (pathological decoupling) между колебаниями LFP на низких частотах и активностью нейронных популяций бледного шара.

Наши данные показали, что учет аperiodического фона не повлиял на характер различий в выраженности осцилляций во всех трех диапазонах, при этом мы смогли выявить значимые различия в значении аperiodического фона у пациентов с различными формами ЦД. Таким образом, можно заключить, что исследование записей локальных потенциалов в подкорковых структурах с учетом аperiodического шума позволяет добавить в анализ дополнительный потенциально информативный показатель, который может рассматриваться как отражение процессов, отличных от патологической синхронизации популяций нейронов в различных диапазонах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00202

Список литературы.

1. Martin S., et al. // bioRxiv. 2018. P.312819.
2. Gao, R., Peterson, E.J., Voytek, B. // NeuroImage. 2017. V.158. P.70–78.
3. Freeman, W.J., Zhai, J. // Cognitive Neurodynamics. 2009. V.3. P.97–103.
4. Haller, M., Donoghue, T., Peterson, E., et al.. // bioRxiv. 2018 P.299859.

ИЗМЕНЕНИЕ РАБОЧЕЙ ПАМЯТИ У ЖИВОТНЫХ С ПРЕНАТАЛЬНЫМ СТРЕССОМ

Богатова К.С.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Стресс – неспецифическая реакция организма на любые раздражители [1]. В последние десятилетия заметно повысился уровень стресса, что привело к распространению хронических дегенеративных заболеваний и психических расстройств: ишемической болезни сердца, рака, инсультов, депрессии, слабоумия [2]. Стресс во время беременности влечет за собой выработку гормонов стресса, таких как глюкокортикоиды и кортиколиберин, которые воздействуют на мозг плода, и тем самым вызывают дефицит обучения, памяти и внимания, беспокойство и депрессивное поведение [3].

Поэтому целью нашего исследования было изучить рабочую память крыс с пренатальным хроническим стрессом.

Было сформировано 2 группы крыс в возрасте 60-72 дней: 1) контрольная группа – крысы, рожденные от самок, находящихся в стандартных условиях вивария, 2) опытная группа – крысы, рожденные от самок, испытывающих хронический мягкий стресс до и во время беременности согласно методике Agnieszka Ragan (Ragan et al., 2013).

Тест на распознавание нового объекта отражает рабочую память крыс на характеристики объектов (форму, запах, цвет, текстуру) и процесс пластичности обучения. Тест представляет собой две 10-минутные сессии, которые проводят в домашней клетке. Для тестирования в домашнюю клетку помещали 2 одинаковых объекта (кубики), первую сессию проводили для запоминания крысой объектов и адаптации к ним. Далее вынимали крысу и меняли один из знакомых объектов (кубик) на незнакомый (баночка). В ходе эксперимента регистрировали время (в секундах), потраченное на исследование, как нового, так и знакомого объекта, в течение второй 10-минутной сессии.

Результаты данного теста показали, что коэффициент отношения времени исследования старого объекта к новому, отражающий когнитивные функции животного, достоверно снижался в опытной группе ($343 \pm 89\%$, $n=6$, $p < 0.05$) по сравнению с контролем ($951 \pm 269\%$, $n=5$). Таким образом, в опытной группе животных наблюдалось нарушение рабочей памяти.

Следовательно, можно сделать вывод, что хронический стресс самок негативно влияет на процесс обучения и хранения полученной информации.

Список литературы.

1. Selye H. // New York: J. B. Lippincott, 1974. [пер. с англ]. М.: Прогресс. 1979. 123 с.
2. Meyers T. // Community. 2018. V.15. P.61-65.
3. Weinstock M. // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2008. V.32. P.1073–1086.

ЧТО НАМ ДАЮТ ДОЛГОВРЕМЕННЫЕ РЕГИСТРАЦИИ АКТИВНОСТИ ОДИНОЧНЫХ НЕЙРОНОВ?

Бондарь И.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Человек и животные используют зрение для удаленного быстрого распознавания потенциальных опасностей и полезных возможностей. Неудивительно, что анализом зрительной информации заняты значительные мощности мозга. Долговременное наблюдение за активностью одиночных корковых нейронов желательно для изучения того, как внешние сенсорные стимулы представлены в мозге. В этом отношении особый интерес представляет нижне-височная кора головного приматов, поскольку известно, что реакции нейронов специфичны для стимулов [1], пластичны [2] и тесно связаны с восприятием сложных зрительных объектов [3,4].

Для долговременного исследования селективности нейронов по отношению к сложным зрительным образам мы используем хронические имплантации множественных микроэлектродов. В настоящем исследовании мы наблюдали изолированные нейроны в нижней височной коре двух макак-резус, используя пучки из 64 микропроводов, которые были хронически имплантированы. Для оценки стабильности регистрации – отведения активности одного и того же нейрона в течение продолжительного периода времени – нами был разработан критерий стабильности. Сходство нескольких параметров, включая формы потенциалов действия, их амплитуды и формы гистограмм межимпульсных интервалов, между разными днями регистраций делает маловероятным тот факт, что стабильно регистрируемые нейроны были неправильно классифицированы. Тем не менее, важно понимать последствия неправильной классификации нейрона. Ошибки обычно делятся на две категории: (1) неспособность идентифицировать нейрон как такой же, как прежде (то есть «ложно отрицательный»), и (2) классификация нового нейрона как того же самого в предыдущем сеансе (то есть «ложно положительный»). Использование нескольких характеристик спонтанного разряда позволяет снизить число ложно отрицательных и ложно положительных классификаций.

Долговременное наблюдение за активностью нейронов показало, что с помощью микропроводных электродов можно отслеживать активность отдельных нейронов нижней височной коры в течение нескольких недель. Кроме того, для записанных в данном отделе коры головного мозга макак сложный паттерн селективности остается стабильным в течение всего периода наблюдения.

Отлаженная методика стабильной регистрации нейронов позволила нам использовать ее для изучения особенностей кодирования информации о лицах в мозгу у обезьян [5]. Восприятие знакомого лица, включая его индивидуальность, выражение и даже намерение, является одним из наиболее впечатляющих общих способностей мозга человека и низших приматов. Многие нейроны в нижней височной коре головного мозга макак избирательно реагируют на лица, иногда только на одного или нескольких особей, демонстрируя при этом низкую чувствительность к изменениям размеров лица и другим вариациям информации, поступающим от сетчатки. Применяя основанную на использовании прототипа систему морфинга изображений лиц человека, которая была ранее разработана для психофизических экспериментов на человеке, мы изменяли информацию об идентичности лица. В ответ на предъявление таких видоизмененных фотореалистичных человеческих лиц мы обнаружили, что нейроны передней височной коры отвечали монотонным увеличением разряда на усиление уровня индивидуальности. Наши наблюдения согласуются с тем фактом, что в этой области ответы на лица формируются путем сравнения, отражающего структурные различия между входящим лицом и внутренним эталоном или нормой. Полученные данные связывают настройку нейронов в нижней височной коре с психологическими моделями восприятия идентичности лица.

Учитывая невероятную пластичность мозга, вполне возможно, что ежедневный опыт постоянно меняет структуру реакции отдельных нейронов в ответ на предъявление сложных зрительных образов. Долговременная регистрация активности одиночных нейронов позволяет всесторонне изучить их свойства и установить роль их активности в формировании внутреннего представления сенсорной информации в мозгу, что может базироваться на ранее установленной избирательности отдельных нервных клеток.

Список литературы.

1. Gross C.G., Rocha-Miranda C.E., Bender D.B. // *J Neurophysiol*, 1972, V.35. P.96–111.
2. Sigala N., Logothetis N.K. // *Nature*. 2002. V.415. P.318–320.
3. Brincat S.L., Connor C.E. // *Nat Neurosci*. 2004. V.7. P.880–886.
4. Kiani R., Esteky H., Mirpour K., Tanaka K. // *J Neurophysiol*. 2007. V.97. P.4296–4309.
5. Leopold D.A., Bondar I.V., Giese M.A. // *Nature*. 2006. V.442. P.572–575.

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛИЗАЦИИ И ПРИ ОТМЕНЕ ЭТАНОЛА

Ереско С.О.¹, Айрапетов М.И.^{2,3}, Бычков Е.Р.², Лебедев А.А.², Шабанов П.Д.^{2,4}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. В последнее время все большее внимание исследователей привлекают изменения механизмов нейроиммунной сигнализации в головном мозге при длительной алкоголизации. В экспериментах на грызунах и при исследовании посмертных образцов мозга людей, страдающих алкоголизмом, было показано, что этанол увеличивает экспрессию TLRs (toll-like receptors, толл-подобных рецепторов) в головном мозге, которая сохраняется в течение длительного времени, однако уровень экспрессии TLRs не изучался ранее в различных структурах головного мозга крыс, ассоциированных с развитием разных форм зависимостей от психоактивных веществ, в том числе алкогольная зависимость. Изучение механизмов активации нейроиммунной сигнализации посредством TLRs в различных структурах мозга крыс в условиях длительной алкоголизации и на разных сроках отмены этанола может открыть новые мишени с целью воздействия на них лекарственными препаратами.

Материалы и методы. В работе были использованы 42 крысы (самцы) линии Вистар. Для моделирования длительной алкоголизации крыс подвергали полупринудительной алкоголизации 20%-ым раствором этанола в течение 1 мес. Контрольная группа крыс получала воду. По истечении месяца крыс декапитировали: группа контроля, группа алкоголизации (1 мес.), группы отмены алкоголя на 1-е сут., 7-е сут. и 14-е сут. Извлекались образцы необходимых структур мозга (гиппокамп, миндалина (AMG), медиальная энторинальная кора (mEC)). Выделение тотальной РНК проводили с использованием реагента TRIzol («Ambion», США). Синтез кДНК проводили методом ОТ с использованием M-MuLV обратной транскриптазы («Promega», США). ПЦР с детекцией в режиме реального времени («Mx3005P», «Stratagene», США) проводили в смеси, содержащей SYBR Green («Евроген», Россия), смесь специфических прямых и обратных праймеров («Beagle», Россия). Полученные данные нормированы к уровню экспрессии гена *Gapdh* и рассчитывались в относительных единицах по отношению к величине экспрессии изучаемого гена методом $2^{-\Delta\Delta CT}$. Для статистической обработки полученных данных использовалась программа Graph Pad Prism v.6.

Полученные результаты. В группе длительной алкоголизации уровень мРНК TLR3 снижается в гиппокампе, увеличивается в mEC и остаётся без изменений в AMG по отношению к группе контроля. Отмена этанола приводит к повышению уровня мРНК TLR3 в гиппокампе в период отмены алкоголя на всех исследуемых сроках отмены. В mEC уровень мРНК понижен на 1-е сут., на 7-е и 14-е сут. увеличивается, превышая уровень контроля на 14-е сут. В AMG уровень мРНК повышается на 1-е сут., на 7-е сут. достигает уровня контроля, на 14-е сут. ниже уровня контрольных значений. Уровень мРНК TLR4 не имел статистически достоверных изменений ни в одной из исследуемых структур мозга в группе длительной алкоголизации. В гиппокампе наблюдается увеличение уровня мРНК TLR4 на 7-е и 14-е сут. отмены алкоголя. В mEC и AMG уровень мРНК увеличивался на 1-е сут., затем уровень мРНК снижается в AMG и в mEC, достигнув уровня контрольных значений на 7-е сут. В AMG уровень мРНК снижается, приобретая значение ниже уровня контроля на 14-е сутки. Уровень мРНК TLR7 не имеет достоверных изменений ни в одной из исследуемых структур мозга в условиях длительной алкоголизации. В гиппокампе уровень мРНК TLR7 снижается на 1-е сут. отмены алкоголя, затем повышается на 7-е и 14-е сут. отмены алкоголя. В mEC не наблюдается

изменений TLR7 на уровне мРНК на всех сроках отмены. В AMG уровень мРНК TLR7 не изменяется на 1-е и 7-е сут., однако снижается на 14-е сут.

Выводы. В группе длительной алкоголизации в течение 1 мес. 20%-ым этанолом не было получено изменений в уровнях мРНК TLRs в исследуемых структурах головного мозга крыс, за исключением небольшого снижения уровня мРНК TLR3 в гиппокампе алкоголизированных крыс и небольшого увеличения уровня мРНК TLR3 в mEC. Однако экспрессия генов TLRs подвергается изменениям во всех исследуемых нами структурах головного мозга крыс в период отмены алкоголя.

Список литературы

1. Айрапетов М.И., Ереско С.О. и соавт. // Наркология. 2019. Т.18(5). С.96-102.
2. Blednov Y.A., Black M. и соавт. // Alcohol Clin Exp Res. 2017. V.41(3). P.531-540.
4. Crews F.T., Walter T.J., Coleman L.G., Vetreno R.P. // Psychopharmacology. 2017. V.234(9-10). P.1483–1498.

ВЛИЯНИЕ РЕАКТИВАЦИИ И МК-801 НА ПРОЦЕСС РЕКОНСОЛИДАЦИИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ У КРЫС

Закиров Ф.Х.¹, Груздева В.А.²

¹*Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова,
Москва, Россия*

²*Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова,
Москва, Россия*

Введение: реактивация – важный нейрофизиологический процесс, в результате которого память переходит в лабильное, доступное для изменения, обновления или реконсолидации состояние.

Цель: выяснить роль реактивации в реконсолидации пространственной памяти и рассмотреть влияние антагониста NMDA-рецепторов (МК-801) на данные процессы.

Материалы и методы: 23 крысы-самца линии Wistar, после предварительной адаптации к поиску и поеданию пищи в 8-канальном радиальном лабиринте, были разделены на 4 группы. Первой группе (n=6) внутрибрюшинно вводился физиологический раствор, после чего животные подвергались реактивации путем помещения в лабиринт без пищевого подкрепления. Второй группе крыс (n=6) вводился МК-801 (0,1 мг/кг), после чего проводилась реактивация. Третьей и четвертой группам животных (n=5 и n=6, соответственно) вводились физиологический раствор и МК-801, реактивация не проводилась. Затем все крысы в течение 7 дней однократно помещались в лабиринт с подкреплением в рукавах, отличных от тех, которые подкреплялись во время периода обучения. Подсчитывалось количество ошибок рабочей и долговременной памяти и время обхода подкрепляемых рукавов. Данные обрабатывались с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 с использованием критериев Фридмана, Краскела-Уоллиса и факторного анализа ANOVA.

Результаты: животные первой группы значительно быстрее обходили лабиринт и находили пищу, а также допускали меньше всего ошибок долговременной памяти, связанной с предыдущим пространственным стереотипом ($p<0,05$). Наибольшее время обхождения подкрепляемых рукавов лабиринта и ошибок долговременной памяти демонстрировали животные четвертой группы ($p<0,05$).

Выводы: наиболее эффективное обучение новой пространственной схеме происходит после реактивации. Антагонисты NMDA-рецепторов подавляют эффект реактивации и препятствует процессу реконсолидации пространственной памяти. Можно полагать, что реактивация является важным условием быстрой и эффективной выработки новых поведенческих паттернов.

Список литературы.

1. Зайченко М. И., Григорьян Г. А., Маркевич В. А. // Журн. высш. нервн. деят. 2018. Т.68(2). С.216-226.
2. Debiec J., LeDoux J.E., Nader K. // Neuron. 2002. V.36(3). P.527-538.
3. Exton-McGuinness M.T., Lee J.L., Reichelt A.C. // Behav Brain Res. 2015. V.278. P.375-384.
4. Exton-McGuinness M.T.J., Patton R.C., Sacco L.B., Lee J.L.C. // Learn. Mem. 2014. V.21. P.468–477.

АНАЛИЗ ФОРМИРОВАНИЯ КРАТКОСРОЧНОЙ ПАМЯТИ У *Drosophila melanogaster* В УСЛОВИЯХ НАРУШЕНИЯ СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ АКТИНА

Заломаева Е.С.^{1,2}, Никитина Е.А.^{1,2}, Журавлев А.В.², Савватеева-Попова Е.В.²

¹*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия*

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

В настоящее время одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является понимание этиологии и прогрессирования различных нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и другие. Данные заболевания являются результатом сложного взаимодействия неблагоприятных внешних факторов, а также индивидуальных особенностей генома, предрасполагающих к развитию болезни. Важнейшую роль в обеспечении пластичности нервной системы играет реорганизация актинового цитоскелета. Ключевым ферментом данного процесса является LIMK1 [2]. Это многофункциональный белок, который регулирует организацию актинового цитоскелета путём сложных биохимических реакций. Одним из свойств, присущих НДЗ, является образование кофилин-актиновых комплексов в нейронах, что нарушает везикулярный транспорт. Анализ нуклеотидной последовательности гена *limk1 D. melanogaster* выявляет 71% гомологии с геном *limk1 H. sapiens*. В связи с этим *D. melanogaster* является наиболее удобным модельным объектом для осуществления данного исследования [3].

Цель работы: провести анализ формирования краткосрочной памяти у линий *Berlin* и *Oregon-R Drosophila melanogaster*, характеризующихся полиморфизмом по гену *limk1*.

Материалы и методы исследования. В работе использовали линии *Berlin* и *Oregon-R Drosophila melanogaster*, полиморфные по гену *limk1*, для которых ранее показано нарушение способности к обучению [1]. Способность к обучению и формированию краткосрочной памяти оценивали методом условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) самца за оплодотворенной самкой. Исследование проводили на взрослых 5-суточных самцах. Обучение и тестирование проводили в специальных камерах из оргстекла. Для выработки УРПУ (тренировки) 5-суточного самца, не имеющего опыта полового поведения, помещали в камеру вместе с оплодотворенной самкой дикого типа *CS* и оставляли на 30 минут. Поведение ухаживания анализировали у наивных самцов и у самцов спустя 0 минут (сразу после) и спустя 30 минут после обучения. Поведение самца регистрировали с помощью специальной программы в течение 300 секунд, фиксируя время начала отдельных элементов ухаживания (ориентация и преследование, вибрация, попытка копуляции), а также время исполнения элементов, не связанных с ухаживанием (активность (побежка), прининг, покой). Для расшифровки и анализа данных использовали специально разработанные компьютерные программы (автор – Н.Г. Камышев). Для каждого самца вычисляли индекс ухаживания (ИУ), т.е. время ухаживания самца за самкой, выраженное в процентах от общего времени наблюдения. Для количественной оценки результатов обучения вычисляли индекс обучения (ИО). Статистический анализ проводили с использованием двустороннего теста

рандомизации. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы принимали равным вероятности не менее 95% ($p \leq 0,05$).

Результаты исследования. У мух линии *Berlin* сразу и через 30 минут после тренировки наблюдали достоверное снижение ИУ на 73% и 41%, соответственно по сравнению с контролем ($p < 0,05$). ИО у мух через 0 и через 30 минут после тренировки достоверно не отличались друг от друга, но достоверно отличались от нуля ($p < 0,05$). У линии *Oregon-R* достоверных различий между ИУ наивных и обученных мух не было выявлено. ИО у мух через 0 и через 30 минут после тренировки достоверно не отличались друг от друга и от нуля. При этом наблюдается достоверное различие между ИО мух разных линий. Так, ИО мух линии *Berlin* был в 3,5 раза больше ИО мух линии *Oregon-R* сразу после обучения ($p < 0,05$), и в 4,5 раза больше через 30 минут после обучения.

Выводы. Таким образом, у мух линии *Berlin* наблюдается формирование краткосрочной памяти, которая способна сохраняться до 30 минут, в то время, как мухи линии *Oregon-R* оказались неспособными к обучению и, соответственно, формированию краткосрочной памяти.

Список литературы.

1. Никитина Е.А., Каминская А.Н., Молотков Д.А., Попов А.В., Савватеева-Попова Е.В. // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. 2014. Т.50(2). С.137–147.
2. Bamberg J.R., Bloom G.S. // Cell Motil. Cytoskeleton. 2009. V.66(8). P.635-649.
3. Reiter L.T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E. // Genome Res. 2001. V.11(6). P.1114-1125.

К ВОПРОСУ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ОРИЕНТИРОВОЧНОГО И ПИЩЕВОГО РЕФЛЕКСОВ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ У КОПЫТНЫХ

Звягина Е.А., Пеньшина Е.Ю.

ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

Ориентировочный и пищевой рефлекс относятся к безусловным и являются одними из основополагающих в развитии потомства. Разным видам животных они способствуют охоте, поиску пищи и реакции на опасность.

Цель данной работы, проанализировать возникновение безусловных рефлексов и их внешние проявления у копытных. Задачи состоят в выяснении роли центральной нервной системы в проведении рефлексов, как они проявляются у копытных в условиях стресса.

Для диких копытных жизненно необходимо быстро реагировать на опасность, поэтому ориентировочный рефлекс, возникает мгновенно и самопроизвольно. Механизм возникновения и проведения рефлекса является общим для всех его типов, именуется иначе как рефлекторная дуга. В ней участвуют рецептор, проводящие пути и орган исполнитель. Его проведение осуществляет спинной мозг, а возникает рефлекс ещё в головном. Аfferентные проводящие пути проводят возбуждение от рецептора в спинной мозг, а эfferентные от мозга к нужному органу, в зависимости от раздражаемого рецептора. Все эти процессы контролируются центральной нервной системой, посредством передачи нервных импульсов в головной мозг.

Безусловные рефлексы закреплены наследственно и даны от рождения, у телят зубров они закрепляются на 2 – 3 день после рождения. Для детёнышей оленей, кабанов, лосей, антилоп характерно «затаивание» при приближении опасности, защите от хищников также способствует покровительственная окраска. Окрас шерсти позволяет сливаться с местностью, делая их незаметными. Ориентировочный рефлекс, очень важен в особенности для «новорождённых», так как в это время они особо уязвимы, поэтому быстрая реакция на зов матери или приближение хищника, залог выживания.

Пищевой рефлекс направлен на поиск, захват и дальнейшую переработку пищи. При поиске пищи копытные ищут нужную растительность и отмечают её визуально и по запаху, мотивацией для поиска служит голод. Если ориентировочный рефлекс возникает при раздражении рецепторов во внутреннем ухе, клеток рецепторов сетчатки глаза и других органов, то при пищевом происходит раздражение рецепторов полости рта, пищевода и всего пищеварительного тракта. Данный рефлекс может активировать не только внешний вид пищи, но и её запах. В естественных условиях копытным приходится добывать пищу самостоятельно, поэтому большую часть дня они добывают корм.

Выводы:

- В естественных условиях обитания ориентировочные рефлексы срабатывают быстрее, вследствие постоянной опасности и раздражающих факторов;
- Механизмы протекания безусловных рефлексов, сходны с таковыми у условных, различие состоит лишь в особенностях действия безусловного раздражителя;
- Развитие детёнышей в естественных условиях, обусловлено хорошо развитыми рефлексамии, для выживания в дикой природе.

АНАЛИЗ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС С ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЕЙ И ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДОНОРОМ СЕРОВОДОРОДА

Зиганшина А.Р., Богатова К.С., Скрипникова В.В., Яковлева О.В.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Гомоцистеин - промежуточный продукт метаболизма незаменимой аминокислоты метионина. Гипергомоцистеинемия – это заболевание, обусловленное избытком в организме гомоцистеина. Гипергомоцистеинемия является предиктором многих патологических изменений в организме. Она является независимым фактором для развития сердечно-сосудистых заболеваний, болезни Альцгеймера, шизофрении и других психотических состояний. Кроме того, повышенный уровень гомоцистеина при беременности может приводить к невынашиваемости плода и самопроизвольному аборту.

Целью данной работы было изучить эффект пренатальной гипергомоцистеинемии на двигательную, исследовательскую активность и тревожно-фобическое состояние потомства в тесте «Открытое поле», а также установить, снимает ли введение донора сероводорода (NaHS) матерям негативный эффект гомоцистеина у потомства.

Эксперимент проводился на крысах линии Вистар, потомство было разделено на 4 группы в соответствии с получаемыми материнским организмом веществами:

- 1) Контрольная группа, состоящая из самок на стандартном рационе питания;
- 2) Гомоцистеиновая группа (ежедневно получали метионин (7,7 г на кг веса) с едой в течение беременности и двух недель после нее);
- 3) Сероводородная группа (ежедневно получали инъекции донора сероводорода (3 мг на кг веса) в течение недели до беременности и четырех недель после нее);
- 4) Группа гомоцистеин+сероводород получала ежедневно и метионин, и инъекции донора сероводорода.

Исследовательская, двигательная активность и тревожность потомства 72-90 дней жизни отслеживались с помощью теста «Открытое поле». Тест представлял собой трехминутную сессию в квадратном поле со стороной 30 см, с видеозаписью. Анализировали следующие параметры: горизонтальная двигательная активность (ГДА) - частота, с которой крысы пересекали границы квадратов четырьмя лапами; вертикальная двигательная активность (ВДА) – количество стоек на задних лапах – являются показателем исследовательской активности грызуна; груминг - количество актов умывания и почесываний животного; а также время выхода из центра открытого поля и количество актов дефекации.

Анализ ГДА показал, что гомоцистеиновая группа пересекает достоверно больше квадратов, чем контрольная группа, при этом показатели животных группы

гомоцистеин+сероводород сопоставимы с контрольными. Гомоцистеиновая группа показывает значительно меньшее количество стоек, чем контрольные животные, хотя в группе гомоцистеин+сероводород количество стоек не отличается от контрольного. Так же гомоцистеиновые животные производили большее количество актов груминга в сравнении с контрольной группой, в то время как данные сероводородных групп не отличаются от контрольных. Время выхода из центра открытого поля не отличается для контрольной и сероводородных групп, хотя гомоцистеиновые животные проводили в центре гораздо меньше времени.

Таким образом, даже в условиях отсроченного эксперимента при пренатальной ГГЦ наблюдается повышенная тревожность потомков, которая выражается в увеличении двигательной активности, актов груминга и снижении времени выхода из центра. При этом наблюдается снижение исследовательской активности. Терапия донором сероводорода самок снимает патологическое влияние пренатальной гипергомоцистеинемии у потомков и этот эффект сохраняется во взрослом состоянии.

Поддержано фондом РФФ №- 14-1500618.

СИСТЕМНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА ОСНОВЕ ДАННЫХ О ФИЛОГЕНЕЗЕ МЕХАНИЗМОВ НЕЙРОГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Иноземцева И.А.

ФКУ «ГБ МСЭ по Рязани и Рязанской области», Рязань, Россия

Формирование нервной системы - результат эволюции систем молекулярной биохимической регуляции. Реконструкция этого процесса проливает свет на некоторые закономерности работы нейрогуморальной системы человека.

Первый этап филогенеза - формирование отграниченных мембраной от внешней среды прокариотических клеток, в которых протекали циклы автокаталитических реакций.

Второй этап - приспособление к ранней кислородной атмосфере с повышенной дневной и пониженной ночной концентрацией O₂ у границ кислородных карманов. Это привело к формированию механизмов аэробного дыхательного контроля и появлению дневного «катаболического» режима работы, когда окисление энергетически обеспечивало активность, и ночного «анаболического» режима, когда происходил синтез соединений. Для эффективного использования 90% O₂ сформировались митохондрии, опосредующие взаимодействие ЦТК и цепи переноса электронов. Для защиты от токсического действия остальных 10% O₂, молекулы ДНК были отграничены от цитоплазмы клетки – сформировалось ядро. Уровни O₂ и CO₂ служили сигналами смены фаз, а результирующие продукты обмена - регуляторами активности. Прекурсорами нейромедиаторов стали многие производные ЦТК.

Третий этап - переход к многоклеточной организации. Различные по экспрессии генов, функциям и строению типы клеток объединялись каскадами метаболических реакций, где продукты обмена одного типа - источник энергии и материала для другого.

Четвертый этап - развитие системы химической коммуникации клеток разных типов.

Важный принцип биохимической коммуникации – подавление одновременной реализации противоположных клеточных реакций в пределах единой ткани. Когда клетки реагируют на химические сигналы несогласованно, это ведет к нарушениям в работе соответствующих органов и провоцирует неспецифическую экспрессию генов.

Постепенное совершенствование способов передачи данных способствовало делегации некоторым клеткам функций информационного обмена и вело к формированию нейрогуморальной системы. Создание ГЭБ, централизация, цефализация и латерализация функций нервной системы защищали ее от повреждающих факторов и сверхсильных безусловных раздражителей, способствовали формированию опосредуемого условными сигналами полнезависимого поведения и ВНД.

Обработка информации в системе организована иерархически. 1. Клеточная обработка с последующим возбуждением или торможением. 2. Локальный обмен между клетками одной функциональной группы. 3. Обмен между клетками разных функциональных групп через центральные каналы нейромедиации. 4. Обмен между нервным и гуморальным блоками.

Рассмотрим работу подсистемы, регулирующей психическую активность и метаболизм глюкозы, где каскады химических реакций через посредство гипофиза и эпифиза замыкаются на гипоталамусе.

«Катаболический» каскад запускается в начале светового дня в гипоталамусе синтезом глюкокортикоидов (кортиколиберин – АКТГ – кортизол). Выброс кортизола изменяет паттерны ритмической активности мозга, приводя его в бодрствующее состояние. Кортизол усиливает синтез катехоламинов (L-тирозин – L-Дора – дофамин – норадреналин - адреналин). В ЦНС по ветвям дофаминергической и норадренергической передачи активируется синтез глутаминовой кислоты в подлежащих областях мозга. На периферии кортизол повышает резистентность тканей к инсулину, адреналин стимулирует синтез глюкагона α -клетками поджелудочной железы. Глюкоза расходуется на поддержание активности, анаболические процессы блокируются соматостатином δ -клеток поджелудочной.

«Анаболический» каскад запускается конверсией триптофана в серотонин после приема пищи и на фоне ослабления норадренергической активности по достижении цели деятельности. Серотонин на периферии участвует в активации β -клеток поджелудочной, синтезирующих инсулин, и гепатоцитов печени, синтезирующих ИФР-1, способствующего выработке соматотропина и блокированию катаболических реакций. В ЦНС ветви серотонинергической передачи пересекаются на клеточных массивах с дофаминергическими и норадренергическими путями, создавая функциональный антагонизм, необходимый для гибкого изменения долговременной потенциации. Завершение светового дня запускает в эпифизе конверсию серотонина в мелатонин, что усиливает синтез ГАМК из глутаминовой кислоты в подлежащих к серотонинергическим путям группах нейронов. Гиппокамп фиксирует рисунок дневных изменений синаптической пластичности. Паттерны ритмической активности изменяются на соответствующие состоянию покоя.

Данная модель может объяснить, например, центральные (относящиеся к ЦНС) механизмы развития осложнений при диабете 2 типа. При хроническом психофизиологическом стрессе мозг привыкает к высоким энергозатратам. Для поддержания его работы кортизол облегчает получение глюкозы из тканей (особенно абдоминальной жировой), а для регуляции осмотического давления и «спонсирования» натриево-калиевого насоса вымывает минералы из костей. Это приводит к повышению уровня сахара в крови, дестабилизации уровня электролитов, постепенному развитию остеопороза и гибели нервных клеток от эксайтотоксичности. К ним присоединяются периферические нарушения: возрастает уровень гликогеоглобина и усиливается агрегация эритроцитов, ведущая к ангиопатиям.

Схожим образом могут быть представлены все психофизиологические процессы в организме. Построение подобных моделей может быть полезным в исследовательской деятельности, а также при разработке методов диагностики и терапии некоторых психических и эндокринных заболеваний.

МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ КСЕНОНА

Кабиольский И.А., Гедзун В.Р., Дубынин В.А.

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

Ксенон (Xe) – химический элемент 18-ой группы пятого периода периодической системы Д.И. Менделеева. Ксенон относится к группе инертных газов, чаще всего в природе находится в форме одноатомного газа, который не имеет запаха, цвета и вкуса. Множество научных работ прошлого столетия привело к обнаружению у ксенона определенного спектра нейротропных свойств, которые могут быть использованы в фармакологии, наркологии, анестезиологии и

других сферах медицины и биологии. В основе этого лежит, прежде всего, мягкое подавление ксеноном активности NMDA-рецепторов.

Показано, что при использовании 80%-ной ксенон-воздушной смеси наблюдается снижение активности NMDA-рецепторов в культурах гиппокампальных нейронов на 60% [9], что сходно с эффектами кетамина и фенциклидина. Выявление конкретного механизма взаимодействия ксенона с NMDA-рецептором является сложной задачей в связи с наличием трех классов субъединиц, образующих при взаимодействии сайты связывания основного лиганда (глутамата), а также сайты связывания коагонистов и сайты аллостерической модуляции. Работы с нокаутными линиями животных, фармакологические исследования, а также компьютерное моделирование, подтвердили, что ксенон взаимодействует именно с глициновым сайтом NMDA рецептора [1, 2, 4, 6].

В ряде исследований показано, что ксенон оказывает нейропротекторное действие при гипоксии-ишемии, причем повышенное содержание глицина снижает данный эффект, что свидетельствует в пользу представления о взаимодействии инертного газа именно с глициновым сайтом NMDA-рецептора [4]. Широко известны механизмы внутриклеточных каскадов, приводящих к гибели нейронов из-за эксайтотоксичности глутаматергической передачи при избыточном или постоянном возбуждении нейронов. Эти каскады инициируются повышенной концентрацией в цитоплазме ионов кальция, проникающих в клетку через NMDA-рецепторы. Ксенон, подавляя возбудимость глутаматергических нейронов, снижает эксайтотоксичные эффекты и уменьшает гибель нейронов в очаге ишемии. Также показано нейропротекторное действие ксенона в моделях синдрома Альцгеймера [10] и паркинсоноподобных состояний [5] – для обоих случаев обнаружено снижение апоптоза и, соответственно, повышение выживаемости нейронов.

Существуют клинические исследования адекватности применения ксенона в комплексной терапии опиатной и алкогольной зависимости. Было установлено, что ингаляция ксенона позволяет корректировать аффективные, интеллектуально-мнестические, диссомнические и другие психопатологические расстройства у наркологических больных на всех этапах течения заболевания [11]. При этом отмечается хорошая совместимость ксенона с другими препаратами. Актуальность подобных работ базируется на том, что нарушение деятельности NMDA-подсистемы лежит в основе развития синдрома зависимости от психоактивных веществ и многочисленных проявлений абстинентного синдрома.

Ксенон перспективен также как антиконвульсант, что показано при оценке снижения судорожной активности у новорожденных с энцефалопатиями [3]. Наконец, как в модельных тест-системах, так и в клинике показаны анксиолитические эффекты ксенона [7].

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-015-00345.

Список литературы.

1. Andrijchenko N.N., Ermilov A. Y., Khriachtchev L. et al. // *J. Phys. Chem.* 2014. V.119. P.2517-2521.
2. Armstrong S.P., Banks P. J., McKittrick T. J. W. et al. // *Anesthesiol.* 2012. V.117. P.38-47.
3. Azzopardi D., Robertson N. J., Kapetanakis A. et al. // *Arch. Dis. Child. Fetal Neonat. Ed.* 2013. V.98. P.F437-F439.
4. Banks P., Franks N.P., Dickinson R. // *Anesthesiol.* 2010. V.112. P.614-622.
5. Baufreton J., Milekovic T., Li Q. et al. // *Mov. Dis.* 2018. V.33. P.1632-1642.
6. Dickinson R., Peterson B. K. Banks P. et al. // *Anesthesiol.* 2007. V.107. P.756-767.
7. Dobrovolsky A., Ichim T. E., Ma D. et al. // *J. Transl. Med.* 2017. V.15. P.137.
8. Franks N. P., Dickinson R., de Sousa S. L. M. et al. // *Nature.* 1998. V.396. P.324.
9. Harris K., Armstrong S. P., Campos-Pires R. et al. // *Anesthesiol.* 2013. V.119. P.1137-1148.
10. Lavour J., Lemaire M., Pype J. et al. // *Cell Death Discov.* 2016. V.2. P.16018.
11. Дудко Т.Н., Сафина Н.Ф. // *Вест. Клин. Больн.* № 51. 2011. Т.4. С.2-3.

**БЛОКАТОРЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО АНИОННОГО САЙТА
АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ НА ОСНОВЕ ПИРИМИДИНА В КАЧЕСТВЕ
СРЕДСТВА ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

Каюмова Р.М., Зуева И.В., Петров К.А., Семенов В.Э.
ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия
Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Болезнь Альцгеймера – нейродегенеративное заболевание, часто встречающееся у лиц пожилого возраста. Общепринятой гипотезой развития болезни Альцгеймера является «амилоидная гипотеза», согласно которой главной причиной нейродегенеративного процесса является нарушение метаболизма белка-предшественника амилоида. Ключевым звеном в этом каскаде является гиперпродукция токсического бета-амилоидного пептида, что приводит к гибели нейронов головного мозга, в первую очередь холинергических. Причины, запускающие накопление токсичных форм бета-амилоидного пептида на данный момент неизвестны. Поэтому все существующие подходы лечения относятся к симптоматической терапии. Наиболее эффективный подход к терапии симптомов БА основан на компенсации холинергического дефицита при помощи ингибиторов фермента ацетилхолинэстеразы, разрушающего нейромедиатор ацетилхолин. Важно отметить, что существуют предпосылки считать, что ингибиторы ацетилхолинэстеразы способны оказывать влияние на и патогенез заболевания, уменьшая агрегацию бета-амилоидного пептида. Однако это справедливо только для соединений, связывающихся с т.н. «периферическим анионным сайтом» фермента. Недавно в ИОФХ им. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН был синтезирован ряд соединений, для которых компьютерное моделирование показало связывание с периферическим анионным сайтом ацетилхолинэстеразы. Целью данной работы стало исследование эффективности новых соединений, в отношении терапии животных с моделью болезни Альцгеймера. Оценка способности соединений №76, 82 и 117 улучшать пространственную память проведена в условиях фармакологической (скополаминовой) и генетической модели БА в Т-лабиринте и тесте УРПИ. Эффективная для коррекции нарушения памяти в условиях скополаминовой модели болезни доза соединения №76 составила 5 мг/кг, в условиях генетической модели соединения №82 и №117 показали свою эффективность как в условиях фармакологической, так и генетической модели БА в дозе 10 мг/кг. Соединение №117 в дозе 1 мг/кг восстанавливало нарушения пространственной памяти у мышей и крыс с трансгенной и скополаминовой моделью болезни Альцгеймера, достоверно уменьшая количество бета-амилоидных отложений в гиппокампе и коре головного мозга животных.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-15-00344.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ
ВЫСШИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Климов Е.А.^{1,2}, Рудько О.И.¹

¹*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*
²*ФГБНУ Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных технологий, Москва, Россия*

Регуляция пищевого поведения – комплексный многоступенчатый механизм, в работе которого участвуют обонятельные, вкусовые и механорецепторы, а также большое количество регуляторных пептидов. Этот сложный механизм регулируется как отделами головного мозга (центр насыщения), так и организмом в целом [1]. Нарушения контроля аппетита и стереотипа питания проявляются в эпидемическом масштабе. Ожирением и сахарным диабетом страдает около 30% людей, нарушения пищевого поведения (нервная анорексия, нервная булимия, компульсивное переедание) охватывают порядка 3% подростков и молодых людей. Нарушения пищевого поведения (НПП) являются одним из основных проявлений множества

психических расстройств. Не менее важной проблемой являются и вторичные расстройства пищевого поведения, обусловленные тяжёлыми соматическими патологиями (булимия при эндокринных расстройствах, анорексия при интоксикациях различного генеза и т.д.), препятствующие оказанию адекватной медицинской помощи [2].

Понимание молекулярных механизмов формирования пищевого поведения позволит выявить сигнальные пути и эффекторные молекулы, нарушения функционирования которых может приводить к нарушению пищевого поведения. Реконструированные *in silico* сигнальные пути позволят также предсказать новые подходы для лекарственной коррекции нарушений пищевого поведения.

В нашем исследовании была использована программа Pathway Studio 9 ® и реферативная база данных ResNet 13 ® компании Elsevier (США). Объектами базы данных являются аннотации биологических объектов (в частности, белков, клеточных процессов и болезней), а также аннотации функциональных связей между ними, сформированные в результате обработки текстового массива полнотекстовых статей и абстрактов, индексированных в интернете. Таким образом, каждая связь содержит не менее одной ссылки на литературный источник. Для построения схем сигнальных путей был использован адаптированный нами ранее алгоритм построения схем сигнальных путей болезней в PathwayStudio [3].

Основой для реконструкции молекулярных сигнальных путей регуляции послужили данные литературы, описывающие межмолекулярные взаимодействия. За основу была взята классификация клеток желудка / кишечника / поджелудочной железы, основанная на распределении рецепторов и секретируемых ими молекулах [4]. Основные анализируемые в данной работе эффекторные молекулы – это нейроэндокринные пептиды (производные белков AGRP, CCK, GCG, HCRT, LEP, NUCB2, PMCH, PYY, PYY, GHRL, SST и др.) и нейромедиаторы (ацетилхолин, серотонин, гистамин и др.), наиболее подробно описанные в литературе [4,5]. Полученные нами сигнальные пути объединяют все этапы контроля аппетита/насыщения и работы отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и позволяют описать молекулярные процессы, ведущие к возникновению голода, насыщения, регуляции пищеварительных функций желудка и кишечника.

В результате проведённой работы нами построены схемы сигнальных путей, описывающие: 1) активацию синтеза и выброса основных сигнальных молекул (нейроэндокринных пептидов и нейромедиаторов) клетками ЖКТ; 2) действия этих сигнальных молекул на активацию сигнальных путей в клетках ЖКТ и нейронах блуждающего нерва и головного мозга.

На основании данных схем предложены возможные молекулярные механизмы, способные объяснить физиологические основы таких нарушений пищевого поведения, как нервная анорексия, нервная булимия и психогенное переедание.

Выводы. 1) Полученные схемы сигнальных путей регуляции пищевого поведения и работы ЖКТ позволяют комплексно охватить молекулярные механизмы данного физиологического процесса. 2) Описанные молекулярные механизмы являются основой для поиска новых лекарственных средств при НПП. 3) Наши знания о молекулярных механизмах регуляции пищевого поведения высших млекопитающих не полны, а необходимость их дальнейшего изучения остаётся крайне актуальной.

Список литературы.

1. Sobrino Crespo C., Perianes Cachero A., Puebla Jiménez L. et al. // Front. Endocrinol. 2014. V.5. P.58.
2. Скугаревский О. А. Нарушения пищевого поведения. Минск. БГМУ. 2007. 340 с.
3. Nesterova A.P., Yuryev A., Klimov E.A. et al. Disease Pathways: An Atlas of Human Disease Signaling Pathways 1st Ed. Elsevier. 708p.
4. Furness J.B., Rivera L.R., Cho H.J. et al. // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2013. V.10(12). P.729-740.
5. King M.W. Gut-Brain Interrelationships and Control of Feeding Behavior. URL: <https://themedicalbiochemistrypage.org/gut-brain.php> (02.07.2019).

ПОЛОВОЙ ДИМОРФИЗМ ОКСИТОЦИНОВОЙ СИСТЕМЫ

Котова М.М., Шлапакова П.С., Гедзун В.Р., Дубынин В.А.

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

Окситоцин (ОТ) играет важную роль в регуляции социальных моделей поведения. Существует всего один тип рецепторов, которые располагаются в головном мозге в следующих областях: обонятельная система, лимбическая система, базальные ганглии, таламусе, гипоталамус (особенно велика плотность рецепторов в вентромедиальном гипоталамусе), а также в стволе и некоторых областях коры [6]. Важно отметить, что окситоцин задействован в регуляции социального поведения в половых отношениях, и это может быть связано с половым диморфизмом окситоциновой системы в головном и спинном мозге. Ниже представлены данные исследований, демонстрирующие такие различия для крыс и людей.

У крыс линии Wistar не было обнаружено половых различий в экспрессии мРНК ОТ-нейронов, однако показано, что у самцов по сравнению с самками больше плотность связывания окситоцина с рецептором в прилежащем ядре, скорлупе, медиальном ядре миндалина, вентромедиальном гипоталамусе, опорном ядре терминального тяжа [3]. Также есть исследования, демонстрирующие более высокую плотность связывания ОТ с рецептором у самцов по сравнению с самками в вентромедиальном ядре гипоталамуса и дорсальных рогах спинного мозга для крыс Sprague-Dawley. Различия ОТ системы в спинном мозге могут быть связаны с гендер-зависимыми различиями в болевой чувствительности [7]. У крыс Long-Evans показан более высокий уровень экспрессии мРНК окситоцинового рецептора у самцов по сравнению с самками в области вентромедиального гипоталамуса [2].

Повышенная плотность связывания окситоцина с рецептором у самцов возможно модулируется гормонально. В исследовании 2005 года показано, что у самок крыс, которым была проведена инъекция тестостерона в раннем постнатальном периоде, уровень связывания ОТ с рецептором увеличился по сравнению с контрольными самками [7]. Также у самок, находящихся в состоянии эструса, уровень связывания гормона с рецептором выше, чем у самок, которые находятся в другой стадии цикла. Стоит отметить, что для эструса характерно повышенное содержание эстрадиола, однако даже во время эструса плотность связывания окситоцина с его рецептором ниже, чем у самцов [3].

У людей не было показано половых различий в количестве окситоцинергических нейронов в паравентрикулярном ядре [7]. Однако концентрация окситоцина в спинномозговой жидкости у женщин выше, чем у мужчин [1]. Это говорит о возможном существовании полового диморфизма в высвобождении ОТ независимо от синтеза.

Также стоит упомянуть о различной чувствительности женщин и мужчин к окситоцину. В одном исследовании интраназально вводимый окситоцин нарушил суждения о воспоминаниях, но это проявилось только в случае мужского пола [4]. В другой работе окситоцин вызвал снижение способности к распознаванию эмоций; эффект, напротив, проявился только у женщин [5].

Таким образом очевидно наличие полового диморфизма в окситоциновой системе, однако такой диморфизм является видоспецифичным. В последнее время увеличивается количество работ по данной теме. Вместе с тем, все еще мало исследований, связанных с половыми различиями в социальном поведении, которые обусловлены окситоцином. Особенно важно учитывать данный вопрос при изучении моделей расстройств аутистического спектра и транслируемости полученных результатов на людей, ведь ОТ, помимо вышеупомянутого полового диморфизма у людей без РАС, вносит различный вклад в формирование аутистической симптоматики у пациентов разного пола.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00362

Список литературы.

1. Altemus M., Jacobson K.R., Debellis et al. // Biol. Psychiatry. 1999. V.45. P.931–933.

2. Bale T.L., Davis A.M., Auger A.P. et al. // J. Neurosci. 2001. V.21. P.2546–2552.
3. Dumais K.M., Bredewold R., Mayer T.E., Veenema A.H. // Horm. Behav. 2013. V.64. P.693-701.
4. Herzmann G., Bird C.W., Freeman M., Curran T. // Psychoneuroendocrinol. 2013. V.38. P.2140–2151.
5. Lynn S.K., Hoge E.A., Fischer et al. // Psychiatry Res. 2014. V.219. P.198–203/
6. Russell J.A., Brunton P.J. // Reference Module in Neurosci. and Biobehav. Psychol. 2017.
7. Uhl-Bronner S., Waltisperger E., Martínez-Lorenzana G., et al. // Neuroscience. 2005. V.135. P.147–154.
8. Wierda M., Goudsmit E., Van der Woude et al. // Neurobiol. Aging. 1991. V.12. P.511–516.

СВЯЗЬ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ КСЕНОНА С ЕГО ПРИМЕНЕНИЕМ В СПОРТЕ И МЕДИЦИНЕ

Милутинович К.С., Гедзун В.Р., Дубынин В.А.

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

На данный момент ксенон рассматривается как наиболее перспективный ингаляционный анестетик 21-го века; он проявляет достаточно яркие анальгетические, седативные и вегетостабилизирующие свойства. В настоящее время ксенон применяется во многих областях медицины как при терапии, так и при реабилитации. Благодаря нейропротекторному действию он нашел себе место в неврологии; используется в офтальмологии, кардиологии, психиатрии, интенсивной терапии, при лечении алкогольной и наркотической зависимостей. Инертный газ ксенон используется для лечения головных болей, бессонницы, депрессий, с его помощью создают искусственную гипоксию. Ксенон может сочетаться с различными лекарствами и не вызывает аллергии. Наконец ксенон, в отличие от используемых препаратов закиси азота и галогеносодержащих соединений, является экологически безопасным.

Последствия повторной ингаляции ксенона в значительной степени определяются его связью с эритропоезином. «Эритропоезин – фактор роста гликопротеинов, синтезируемый клетками, расположенными рядом с проксимальными почечными канальцами, в ответ на сигналы почечного кислородосенсора, вероятно белка гема» [2].

В исследовании было обнаружено, что вентиляция ксеноном увеличивает активность HIF-1 в почках мышей, а также в клеточной культуре почек человека. HIF-1 активируется в ответ на гипоксию, защищая организм [4]. Было установлено, что вместе с увеличением активности HIF-1 после вентиляции 30% ксеноном почки мыши, увеличивается количество эритропоезина (EPO) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Несмотря на то, что активатором EPO является HIF-2, в экспериментальных условиях эту же функцию реализовал HIF-1 [3].

Было также проведено исследование на здоровых людях. После ингаляции 30% ксеноном у людей были измерены концентрации некоторых гормонов, факторов роста, цитокинов, в том числе эритропоезин. Через 8 часов после ингаляции ксенона EPO значительно повысился, через 24 часа был достигнут пик концентрации. Было увеличено и количество стромального клеточного фактора 1 (SDF-1), но не было обнаружено различий в отношении факторов роста, цитокинов или андрогенов [5].

Исследования показали, что ксенон-кислородная ингаляция оказывает положительное влияние на функциональное состояние спортсменов, способствует поддержанию оптимального психологического состояния. Это позволило внедрить ксенон в практику спортивной медицины, что способствует улучшению качества подготовки спортсменов. Ингаляция оказывает слабый стимулирующий эффект на сердечно-сосудистую систему, в основном из-за эффекта эйфории, вызываемого ксеноном. Показано, что газ также оказывает действие на парасимпатическую систему, активируя ее. При ингаляции происходит стабилизация клеточной мембраны, что способствует восстановлению мышц. Курсовое

применение ксенон-кислородной смеси приводит к изменению концентраций гормонов в крови: тестостерона (повышается) и кортизола (понижается), способствуя более быстрому восстановлению после изнурительных тренировок. Стоит заметить, что ксенон так же улучшал самочувствие и настроение испытуемых.

«В 2014 году ксенон внесен в список запрещенных препаратов по решению Всемирного антидопингового агентства (WADA). Внесение инертных газов, в список запрещенных препаратов, основываясь на данных, полученных от исследования на крысах» [1].

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-015-00345.

Список литературы.

1. Бухтияров И.В., А. С. Кальманов, Ю. Ю. Кисляков и др. // Научно-практический журнал. 2010. С.22–29.
2. Erslev M.D., Allan J. // N. Engl. J. Med. 1991. V.324. P.1339–1344.
3. Jelkmann W. // Dtsch. Z. Sportmed. 2014. P.267–271.
4. Ma D., Lim T., Xu J., et al. // J. Am. Soc. Nephrol. 2009. V.20. P.713–720.
5. Stoppe C., Ney J., Brenke M., et al. // Sport. Med. 2016. V.6. P.1753–1766.

РАЗЛИЧИЯ РИТМИЧЕСКИХ ОСЦИЛЛЯЦИЙ ЛОКАЛЬНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ БЛЕДНОГО ШАРА У БОЛЬНЫХ С ТОНИЧЕСКИМ И КЛОНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ДИСТОНИИ

Незвинский А.А.¹, Семенова Ю.Н.¹, Усова С.В.¹, Попов В.А.^{1,2}, Томский А.А.²
Хлебникова Н.С.¹, Седов А.С.¹

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук (ФИЦ ХФ РАН), Москва, Россия*

²*Центр нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко, Москва, Россия*

Цервикальная дистония (ЦД) - двигательное расстройство, характеризующееся патологическим напряжением шейных мышц, которое приводит к насильственному повороту головы (тоническая компонента) и тремороподобным движениям (клоническая компонента). Согласно современной концепции, ведущую роль в патогенезе ЦД играют изменения низкочастотной ритмической активности в системе базальных ганглиев, прежде всего в бледном шаре [1,2]. Ранее было показано, что хроническая стимуляция бледного шара, признанная на данный момент наиболее эффективным методом терапии дистонии, приводит к подавлению патологических ритмов (4-12 Гц) и быстрому послеоперационному улучшению клонических моторных симптомов ЦД, в то время как терапевтический эффект у больных с тонической формой ЦД зачастую является отсроченным [3]. С другой стороны, недавно была сформулирована гипотеза, что тета-активность подкорковых структур и, в частности, бледного шара является общим нейрофизиологическим маркером для гиперкинетических расстройств [4, 5]. В рамках данного исследования мы провели анализ локальных потенциалов (LFP) бледного шара у больных с разными формами ЦД с целью выявить различия в осцилляторной активности при тоническом и клоническом проявлениях ЦД.

В исследования было включено 9 пациентов, 4 с тонической и 5 с клонической формами ЦД. Для оценки ритмической активности нейронов бледного шара мы рассчитали индексы осцилляции как средние значения спектральной мощности LFP в типовых частотных диапазонах: дельта (1-3 Гц), тета (3-8 Гц), альфа (8-12 Гц), низкая бета (12-20 Гц), высокая бета (20-30 Гц) и гамма (30-60 Гц).

Как и ожидалось, у больных с тоническими проявлениями ЦД мы наблюдали более высокую мощность осцилляций в тета-диапазоне (4,98 (4,18-5,45) по сравнению с клоническими (4,41 (3,57-4,93)). Для пациентов с выраженной клонической компонентой заболевания индексы осцилляции в альфа (0,68 (0,57-0,92)) и низком бета (0,49 (0,25-0,65))

диапазонах были значимо выше, чем у пациентов с тонической формой (альфа: 0,43 (0,32-0,64); бета:0,43 (0,17-0,58)). В остальных частотных диапазонах значимые отличия выявлены не были.

Эти результаты согласуются с исследованиями функциональной коннективности, показавшими когерентность ритмической активности бледного шара и мозжечка в альфа-диапазоне [6]. Основываясь на этих данных, можно предположить, что повышенная активность в альфа-диапазоне может являться отражением аномалий в проекциях от мозжечка, приводящим к возникновению дистонического тремора. Полученные нами данные также указывают на то, что сниженная осцилляторная активность бледного шара в бета диапазоне способствует появлению неконтролируемых дистонических движений у больных с тонической формой ЦД. Эти результаты согласуются с представлением об антикинетическом статусе бета-осцилляций в системе базальных ганглиев.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00202

Список литературы.

1. Bajwa JA, Johnson MD, Vitek JL Pathophysiology of Dystonia in Textbook of Stereotactic and Functional Neurosurgery. 2009. P.1779-1800
2. Moll C.K.E., Galindo-Leon E., Sharott A. et al. // *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2014. V.8. P.15.
3. Barow, E., Neumann, W. J., Brücke, C., Huebl, J., Horn, A., Brown, P., Kühn, A. A. // *Brain: a journal of neurology*. 2014. V.137(11). P.3012–3024.
4. Neumann W.-J., Horn A., Ewert S., et al. // *Ann Neurol*. 2017. V.82(6). P.912-924
5. Neumann W.J., Huebl J., Brücke C., et al. // *Ann Neurol*. 2018. V.84(4). P.505-514.
6. van Wijk B., Neumann W. J., Schneider G., et al // *NeuroImage*. 2017. V.159. P.1–8.

СОДЕРЖАНИЕ ДОФАМИНА В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ ЦНС КРЫС ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ГЛИБУРИДА

Пестерева Н.С., Зубов А.С.

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

Одной из серьёзных фармакологических проблем является множественная лекарственная устойчивость (резистентность) (МЛУ) - резистентность, проявляемая микроорганизмом к различным противомикробным препаратам. Типы, наиболее угрожающие здоровью человека, - это бактерии MDR, которые устойчивы к множественным антибиотикам; другие типы включают вирусы и паразиты, обладающие МЛУ (устойчивых к множеству противогрибковых, противовирусных и противопаразитарных препаратов широкого спектра химических веществ) [1]. Создание лекарств, действующих на организмы, обладающие МЛУ, позволит не только вылечить больных, но и глубже исследовать природу патогенов.

На данный момент известно не так много маркеров МЛУ: белки Vcl2, MVP (Major vault protein), а также различные белки семейства ABC. ABC-транспортеры являются самыми представленными маркерами множественной лекарственной устойчивости. В связи с этим широко изучаются модификаторы множественной лекарственной резистентности, ингибирующие функцию ABC-транспортеров: 5-фторурацил, верапамил, генистеин, азид натрия, цисплатин, карбоплатин, глибурид, хотя до сих пор некоторые из них не нашли применения в клинике. Глибурид является наиболее используемым лекарством при терапии диабета II типа [2]. Также он применяется в качестве вспомогательного вещества при нарушениях функций почек и печени, играющих ключевую роль в метаболизме организма. Но влияние на ЦНС изучено не было.

В связи с этим было проведено исследование по определению уровня дофамина и его метаболита в различных отделах ЦНС крыс, получивших однократную дозу глибурида

интрагастрально (20 мг/кг). Через 3 часа была проведена декапитация с последующим излечением гиппокампа, стриатума и отдела среднего мозга, содержащего чёрную субстанцию (ЧС). Время декапитации выбиралось с учетом изменения уровня глюкозы в крови крыс. Через 3 часа уровень глюкозы в крови крыс опытной группы упал в 1,25 раза в сравнении с контрольной группой. Методом ВЭЖХ были определены уровни дофамина и ДОФУК. В гиппокампе уровень дофамина в опытной группе вырос в 1,19 раз в сравнении с контрольной, в стриатуме – вырос в 1,74 раза, в черной субстанции – в 4,57 раза. Уровень ДОФУК в гиппокампе снижается в 1,07 раз, а в стриатуме снижается в 1,11 раз в сравнении с контрольной группой. Видно, что уровень дофамина возрастает по всех анализируемых структурах, тогда как уровень ДОФУК падает.

Кроме того, было выявлено, что секреция кальпаинов ингибируется глибуридом. Кальпаины – семейство кальций-зависимых внутриклеточных протеаз, гиперактивация которых наблюдается при нейродегенеративных процессах. В предыдущих опытах лаборатории было показано, что активация кальпаина-2 происходит при повышенном уровне дофамина, даже в отсутствие кальция – классического активатора протеазы. Дополнительно был детектирован активный кальпаин во внеклеточном пространстве. Совокупность полученных результатов привела к опыту по определению типа возможной секреции/высвобождения кальпаинов. Анализ аминокислотной последовательности кальпаина показал отсутствие сигнальной последовательности для классического типа секреции. Потому в эксперименте был использован ингибитор ABC-транспортёров – глибурид. Было выбрано это соединение, так как ABC-транспортёры являются наиболее представленными участниками одного из путей неклассической секреции. Были выделены синапсосомы, которые инкуировались в течение 90' с различными добавками, в т.ч. с глибуридом. Далее супернатант инкуировался с казеином - субстратом к интересующей протеазе, кальпаину. После чего методом электрофореза наглядно была продемонстрирована протезная активность. В пробах с добавленным глибуридом активного кальпаина не наблюдалось, что свидетельствует о неклассическом пути секреции кальпаина синапсосомами посредством ABC-транспортёров.

Список литературы.

1. Magiorakos A.-P., Srinivasan A., Carey R. B., et al. // *Clinical Microbiology and Infection*. 2013. V.18(3). P.268-281.
2. Frederico M.J.S., Castro A.J.G., Menegaz D., et al. // *Curr Drug Targets*. 2017.;V.18(6). P.641-650.

ПЕПТИДНЫЕ АНАЛЬГЕТИКИ – ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ

Рудько О.И.

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

Существующие обезболивающие препараты условно можно разделить на 3 группы – наркотические, нестероидные противовоспалительные анальгетики/жаропонижающие (НПВС) и местные анестетики. Принцип действия наиболее сильных на сегодняшний момент обезболивающих средств, активирующих опиоидные рецепторы - угнетение межнейронной передачи болевых импульсов в центральной части афферентного пути, то есть обман мозга и отсутствие распознавания болевых стимулов с периферии. Но в связи с эффектами привыкания и возникновением зависимости от препаратов, длительное применение их неприемлемо. Существующие НПВС не могут сравниться с опиатами по силе анальгетического эффекта, и стандартная медицинская практика купирования болей заключается лишь в комбинировании существующих ненаркотических обезболивающих препаратов друг с другом, спазмолитиками, местноразогревающими средствами и т.п. Также недостатком НПВС можно считать их низкую специфичность именно как обезболивающих

агентов и достаточное количество побочных эффектов. Местные анестетики ограничены по времени действия и их эффект, как правило, сопровождается общей потерей чувствительности защищаемой области, что ограничивает подвижность и может приводить к невольным травмам.

Поэтому, несмотря на большое количество разработанных и применяющихся традиционных антиноцептивных препаратов, существует острая потребность в разработке принципиально новых лекарств и методов обезболивания, которые могли бы применяться для избавления от боли таргетно, с минимумом побочных эффектов и отсутствием наркотического эффекта.

Наиболее интересной в этом плане представляется группа опиоидных пептидов с антиопиоидной активностью. Вещества этой группы усиливают болевой ответ, увеличивают состояние беспокойства, стимулируют выброс АКТГ и кортикостерона, ингибируют морфин-индуцируемые эффекты - препятствуют проявлению антиноцептивных свойств морфина, развитию толерантности и зависимости от морфина и алкоголя; в экспериментах влияют на синдром отмены у морфин-зависимых животных. Тем не менее, именно эта группа пептидов весьма перспективна в плане разработки мощнейших анальгетиков, для которых не характерны привыкание и морфин-подобная зависимость.

Ядовитые животные занимают одну из самых успешных эволюционных ниш и встречаются практически на каждом континенте. Целью применения их токсинов является сверхбыстрое выведения из строя добычи или защита от хищников. Это привело к эволюции компонентов ядов, которые действуют на целый ряд биологических мишеней, включая ионные каналы, связанные с G-белком рецепторы, транспортеры и ферменты с исключительной избирательностью и эффективностью. Это делает токсины животного происхождения, имеющие, как правило, пептидную природу, привлекательными фармакологическими инструментами и перспективными лекарственными препаратами.

Последние прорывы в изучении сигнальных путей физиологических процессов позволили определить основные молекулярные мишени - трансмембранные белки, которые образуют каналы или рецепторы, участвующие в проведении боли. Направленная блокировка этих каналов и/или рецепторов нейроактивными пептидами, полученными из животных токсинов, ингибирует сигнальный путь боли, вызывая антиноцептивный эффект.

В представленной работе дан краткий обзор наиболее перспективных веществ, преимущественно пептидной природы с показанными антиноцептивными эффектами:

1. Геморфины, бифункциональные опиоидные соединения и химерные пептиды, непептидные агонисты дельта-опиоидных рецепторов, пептиды – селективные агонисты периферических каппа-опиоидных рецепторов.
2. Антиноцептивные токсины, в том числе токсины членистоногих и пауков, земноводных, токсины морских животных, змей.

Также будут обсуждены проблемы и перспективы некоторых нетрадиционных методов введения и комбинирования существующих анальгетических препаратов.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ (фМРТ) ПОКОЯ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПСИХОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Соколов О.Ю.

ФГБНУ Научный центр психического здоровья РАН, Москва, Россия

Современные МРТ-технологии позволяют изучать как структурные, так и функциональные особенности ЦНС и значительно расширяют возможности нейрофизиологов и психофармакологов. Влияние психотропных пептидных препаратов на функциональные связи (ФС), коннектом мозга человека методом МРТ ранее не изучалось. В докладе

представлены результаты томографического (Philips 3T) исследования эффектов ноотропа Семакс и анксиолитика Селанк на ФС мозга 52 здоровых испытуемых левшей (Семакс, 7 муж и 7 жен, 42.6 ± 9.5 лет; Селанк, 9 муж и 7 жен, 38.8 ± 11.9 лет; плацебо, 10 муж и 12 жен, 43.5 ± 9.3 лет).

На первом этапе изучали способность 1% Семакса влиять на уровень окси/дезоксигемоглобина (BOLD-сигнал) в структурах мозга, связанных с сетью оперативного покоя (DMN), левой регуляторной сетью (LECN) и зрительной сетью. В начале эксперимента получали анатомические T1-изображения: 170 срезов, воксель $1 \times 1 \times 1$ мм. Затем трижды получали функциональные T2*-изображения фМРТ покоя (35 срезов, воксель $1.8 \times 1.8 \times 4$ мм): перед и через 5 и 20 мин после интраназального введения препарата (по 60 мкл в каждую ноздрю, доза 1.2 мг) или плацебо (также по 60 мкл, 0.3% нипагин). Во время каждого подхода фМРТ-сканирования испытуемые фиксировали взгляд на белом кресте в центре серого поля монитора в течение 5 мин и старались избегать систематической мыслительной деятельности. Анализ полученных данных показал, что в интервале 0-5 мин наблюдается как сходная (для LECN), так и отличная (для DMN) динамика BOLD-сигнала субкомпонентов этих сетей. Через 20 мин (по сравнению с интервалом 0-5 мин) в группе Семакса, но не плацебо, было обнаружено статистически значимое увеличение объема рострального (медиальная фронтальная кора) субкомпонента сети DMN и одновременное уменьшение объема рострального (верхняя и средняя лобные извилины) субкомпонента сети LECN. Различий по характеристикам зрительной сети выявлено не было. Редукция лобного субкомпонента сети LECN через 20 минут может быть связана с известными реципрокными взаимодействиями между сетями DMN и LECN. Предполагается, что воздействие Семакса на лобные отделы мозга опосредовано как васкулярными (изменение гемодинамики), так и нейрональными эффектами (временная синхронизация большего числа нейрональных популяций). Топографический локус острого эффекта Семакса хорошо согласуется с клиническими данными о наибольшей эффективности препарата именно при каротидной форме ишемического инсульта.

На втором этапе исследовали способность Семакса и Селанка влиять на ФС миндалины (зона регуляции тревоги) и дорсолатеральной префронтальной коры (ДЛПФК; зона управляющих функций, в том числе рабочей памяти) с остальными зонами мозга. Схема проведения фМРТ была аналогична первому этапу и также проводилась трижды: перед введением, через 5 и 20 мин после введения 1% Семакс (доза 1.2 мг), или 0.15% Селанк (доза 0.2 мг), или плацебо. Данные фМРТ покоя обрабатывались методом анализа ФС между зоной интереса (region of interest, ROI) и остальными вокселями во всем объеме мозга ("ROI-to-voxel analysis"). Зоны интереса – правая и левая миндалины и правая и левая ДЛПФК. С помощью общей линейной модели со случайными эффектами были получены связи между каждой из зон интереса и остальными вокселями во всем объеме мозга. Анализировали, имеются ли различия ФС каждой зоны интереса между тремя группами между тремя временными точками (3×3 mixed ANCOVA). Между тремя группами между всеми точками были выявлены различия ФС только у правой миндалины - с височной веретеновидной, нижней и средней височной и парагиппокампальной извилиной правого полушария. Был проведен posthoc ROI-to-ROI анализ ФС правой миндалины и правой височной области между всеми группами и временными точками попарно. У Селанка и Семакса были выявлены как схожие эффекты на ФС правой миндалины с правой височной областью, так и различные ($p(\text{FDR-corrected}) < 0.05$). Общим эффектом было увеличение ФС от 5 к 20 мин при сравнении с плацебо. Различия наблюдались при сравнении «0» и «5 минут»: при сравнении с плацебо в группе "Семакс" ФС уменьшалась, а в группе "Селанк" – не изменялась. В группе "Селанк", по сравнению с группой "Семакс", ФС увеличивалась от 0 к 5 минутам. Данные различия могут косвенно свидетельствовать о различных механизмах действия пептидов. Интересно, что аналогичный «однополушарный» эффект обнаружен при интраназальном введении окситоцина больным с ПТСР. Окситоцин влиял на ФС миндалины и таламуса, хотя и не правого, а левого полушария.

Отсутствие межгрупповых различий по ФС ДЛПФК может быть связано со сходными нейрональными процессами в этой области при приеме препаратов и плацебо.

Итак, нами впервые методом фМРТ установлено влияние Селанка и Семакса на нейрональные сети головного мозга человека, отличное от эффекта плацебо, и выявлена его топография. Показана вовлеченность ключевого элемента лимбической системы – миндалины - в механизмах нейротропного действия пептидов.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *BDNF*, *FGF-2* И *5-HT1A* В РАЗЛИЧНЫХ СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭЛЕКТРОСУДОРОЖНОЙ СТИМУЛЯЦИИ В МОДЕЛИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕПРЕССИИ

Ушакова В.М.¹, Зубков Е.А.¹, Зоркина Я.А.¹, Морозова А.Ю.¹, Павлов К.А.¹,
Иноземцев А.Н.², Чехонин В.П.¹

¹ФГБУ «НМИЦ ПН имени В.П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Поиск оптимальных методов терапии депрессии является актуальной задачей современной психиатрии. Несмотря на преимущественное использование антидепрессантов в клинической практике, часто этот подход оказывается малоэффективным из-за высокой встречаемости лекарственной устойчивости. Эффективным методом лечения лекарственно устойчивой депрессии является электросудорожная терапия (ЭСТ). Несмотря на сравнительно долгое использование методики в практике, механизм действия ЭСТ до конца не исследован. Показано, что она стимулирует моноаминергические системы мозга, нейрогенез, усиливает выработку различных факторов роста, например, *BDNF*, *VEGF*, *FGF-2*. Целью нашей работы стало исследование изменений экспрессии генов *BDNF*, *FGF-2*, *5-HT1A* в различных структурах мозга крыс при использовании электросудорожной стимуляции (ЭСС) в модели экспериментальной депрессии, основанной на воздействии ультразвуковых (УЗ) волн переменной частоты, а также анализ ассоциации данных изменений с поведенческими эффектами стимуляции.

В работе использовались самцы крыс линии Sprague-Dawley (n=32) весом 250-300 г., которые были разделены на группу контроля, группу с экспериментальной депрессией без ЭСС и с ЭСС, а также на группу, которая подвергалась ЭСС без воздействия УЗ. Экспериментальную депрессию моделировали при помощи хронического воздействия УЗ волн переменной частоты (20-45 кГц) в течение 21 дня [1]. ЭСС применялась транскраниально билатерально (70 мА, 50 Гц, 500 мкс). Поведенческие эффекты оценивали в тестах «Потребление сахарозы» и «Принудительное плавание». Экспрессия генов *BDNF*, *FGF-2* и *5-HT1A* оценивалась в префронтальной коре, стриатуме и гиппокампе методом ПЦР в реальном времени.

По результатам исследования было показано, что хроническое УЗ воздействие приводило к проявлению депрессивно-подобного поведения у лабораторных крыс, что отражалось в снижении предпочтения сахарозы ($p < 0,05$) в тесте «Потребление сахарозы» и увеличении длительности иммобильности ($p < 0,05$) в тесте «Принудительное плавание» по сравнению с контролем. В то же время, было выявлено, что использование ЭСС оказало противодепрессивные эффекты, что выражалось в значимом увеличении предпочтения сахарозы ($p < 0,05$) и снижении иммобильности ($p < 0,01$). Обособленное применение ЭСС не привело к выраженным изменениям в поведении крыс Sprague-Dawley.

При оценке экспрессии *BDNF* и *FGF-2* в структурах мозга крыс было показано снижение экспрессии генов в гиппокампе при депрессивно-подобном состоянии ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно), которое нивелировалось после применения ЭСС ($p < 0,01$ в обоих случаях). Активирующий эффект воздействия на *BDNF* и *FGF-2* был показан и в префронтальной коре ($p < 0,01$). В стриатуме выраженных отклонений экспрессии гена *BDNF* обнаружено не было, тем не менее, наблюдалась увеличение экспрессии *FGF-2* под воздействием ЭСС ($p < 0,01$),

которая положительно коррелировала с увеличением предпочтения сахарозы ($r=0,9$, $p<0,05$). Наличие корреляции подтверждает тот факт, что активирующие эффекты ЭСС на экспрессию факторов роста могут лежать в основе наблюдаемых поведенческих противодепрессивных эффектов.

Было показано увеличение экспрессии гена *5-HT1A* в префронтальной коре и стриатуме у группы, подвергавшейся УЗ ($p<0,05$ в обоих случаях). Усиление экспрессии в стриатуме положительно коррелировало ($r=0,89$, $p<0,05$) с увеличением длительности иммобильности, что является одним из маркеров депрессивно-подобного поведения. На фоне использования ЭСС, наоборот, было выявлено снижение экспрессии *5-HT1A* во всех исследуемых структурах мозга крыс ($p<0,05$ в префронтальной коре и стриатуме, $p<0,01$ в гиппокампе). Данные молекулярно-генетические изменения также могут лежать в основе наблюдаемых противодепрессивных поведенческих эффектов стимуляции.

Таким образом, нами были показаны противодепрессивные эффекты ЭСС в модели воздействия УЗ волн переменной частоты и выявлены изменения экспрессии генов *BDNF*, *FGF-2* и *5-HT1A* в различных структурах мозга крыс под воздействием УЗ и ЭСС. Полученные данные свидетельствуют о том, что поведенческие эффекты УЗ и ЭСС могут быть опосредованы наблюдаемыми молекулярно-генетическими изменениями.

Список литературы.

1. Морозова, А.Ю., Зубков Е.А., Сторожева З.И. и др. // Бюл. эксп. биол. мед. 2012. Т.12. С.705-708.

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПИДНОГО КОМПЛЕКСА КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА НА ПРЕДМЕТ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛИЧНОГО ЗАПАХА

Панфилов П.Б.¹, Панфилова З.Ю.^{1,2}, Фиронова Ю.С.^{1,2}

¹*Федеральное государственное казённое учреждение «Экспертно-криминалистический центр Министерства внутренних дел Российской Федерации» (ФГКУ ЭКЦ МВД России), Москва, Россия*

²*Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия*

За индивидуальный запах человека отвечают церамиды – это полярные липиды, относящиеся к классу сфинголипидов. Индивидуальный липидный комплекс присутствует во всех клеточных структурах организма человека. Благодаря проведенным исследованиям установлено, что в процессе жизнедеятельности и сигнализации эритроцитов и лимфоцитов остаются индивидуализирующие субъекта пахучие вещества независимо от того, происходит деление клеток или нет.

На базе ольфакторной лаборатории был разработан способ химической экстракции индивидуального липидного комплекса, позволяющий сконцентрировать пахучие компоненты и эффективно очищать получаемые пробы от пахучих помех, благодаря чему значительно расширился круг исследуемых биологических объектов. Новый способ экстракции позволил осуществить лизис клеток костного материала человека. Запаховые пробы собирались с вышедшего в лизирующий буфер клеточного содержимого. По полученным пробам была проведена их последующая успешная дифференцировка. Впервые в отечественной и зарубежной практике при помощи инструментального метода определен диагностический признак наличия запаховых следов человека, как биологического вида.

При помощи хроматомасспектрометрии в полученных пробах установлено присутствие минимального количества примесей, воспринятых применяемыми растворителями с поверхностей полимерных пробирок и шприцов. В исследовании использовалось значительное разнообразие биологических следов на объектах (объекты со следами пота и

крови, экспериментальные образцы пота и крови). Нами было установлено, что во всех полученных пробах отсутствуют жирные кислоты, триглицериды, холестерин, сквалены.

Определение состава липидов в полученных пробах осуществлялось с помощью аналитической ТСХ, при проведении последовательных реакций для идентификации липидов было установлено, что это полярные липиды, имеющие в своем составе группу $-NH_2$, холин и фосфор. Полученные значения R_f соответствовали церамиду, церамидфосфату и сфингомиелину, это подтверждали и качественные реакции с использованием сульфата аммония и реагента Васьковского для церамидов, а так же качественные реакции с использованием нингидрина, реагента Васьковского и Драгендорфа в сравнении с эталоном сфингомиелина.

Список литературы.

1. Панфилов П.Б., Панфилова З.Ю., Фиронова Ю.С. // Судебная Медицина: Ассоциация судебно-медицинских экспертов. 2019, Т.5(15 (приложение)). С.140 – 141.
2. Панфилов П.Б., Панфилова З.Ю., Фиронова Ю.С. // Вестник Восточно-сибирского института МВД России. 2019. Т.1(88). С.105–113.
3. Панфилов П.Б., Панфилова З.Ю., Фиронова Ю.С. // Сб. науч. статей. Материалы III Международной научно-практической конференции: Дискуссионные вопросы теории и практики судебной экспертизы 28–29 марта 2019 г. 2019. С.519-526.
4. Сулимов К.Т., Старовойтов В.И., Панфилов П.Б., Саламатин А.В. Типовые экспертные методики исследования вещественных доказательств / Под редакцией А.Ю. Семенова, общая редакция канд. техн. наук В.В. Мартынова. М. – ЭКЦ МВД России. 2012. С.124 – 133.

НЕИНВАЗИВНЫЙ ПОДХОД К ЗАПИСИ ДВИЖЕНИЯ ГЛАЗ В ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА БОДРСТВУЮЩИХ ОБЕЗЬЯНАХ

Шамсиев И.Д.^{1,2}, Бондарь И.В.¹, Васильева Л.В.¹, Латанов А.В.², Терещенко Л.В.²

¹*ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия*

²*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия*

Проведение нейрофизиологических исследований на приматах зачастую требует значительного ограничения движений головы животного во время эксперимента. Традиционно проблема закрепления головы решалась с помощью имплантации фиксатора в череп и последующего прикрепления его к специальным внешним фиксирующим устройствам [2]; существуют также и более современные варианты [3]. Использование инвазивных подходов сопряжено с дополнительными рисками из-за операции, вызываемых ею воспалительных процессов и изнашивания фиксатора. В литературе существуют упоминания неинвазивных методов фиксации [1, 3], однако они достаточно технически сложны и не обращаются к современным методам в должной степени. В этой работе мы впервые использовали методы 3D-визуализации и 3D-печати для создания анатомически адаптированной системы фиксации головы и оценили ее эффективность.

На первом этапе мы провели КТ с использованием заранее подготовленной крепежной системы. Томография проводилась на стереотаксически закрепленном анестезированном животном (Золетил, 1 мг/кг; Медитин, 2 мг/кг). По ее результатам с помощью специальной программы (Slicer v4.8.1) была получена трехмерная модель головы обезьяны, которую использовали для дальнейшей работы.

В качестве конструкции фиксации животного во время глазодвигательной задачи был выбран «шлем», состоящий из ограничивающих движения головы половин. 3D-печать позволила сделать его эргономичным и соответствующим анатомической структуре головы. Моделирование и подготовку к печати проводили с помощью программы SketchUp. Две

боковые части шлема закрепляются и перемещаются друг относительно друга с помощью пары алюминиевых «рельсы» над верхней поверхностью черепа и за затылком. Шлем также адаптирован для регистрации ЭЭГ, так как теменная и затылочная области остаются открытыми. После размещения на голове животного шлем закрепляется во внешней системе фиксации, которая прикреплена к приматологическому креслу.

В рамках исследования производили запись положения одного глаза обезьяны на видео (200 или 500 кадров/сек) с помощью ИК-камеры. Положение зрачка и его центра детектировали на каждом кадре с помощью программы FastVideoLab. В качестве экспериментальной парадигмы использовали глазодвигательную задачу с одношажным смещением стимула. Последовательность событий была следующей: предъявление центрального фиксационного стимула → предъявление периферического стимула (no-delay парадигма) → изменение яркости периферического стимула → реакция животного нажатием на рычаг → получение подкрепления. Необходимость фиксации взгляда на центральном стимуле поддерживалась попытками, в которых животное реагировало нажатием на рычаг на изменение его яркости. Периферические стимулы предъявляли в псевдослучайном порядке в трех угловых положениях справа и слева, в двух угловых положениях сверху и снизу от фиксационной точки и по одной в углах экрана (в среднем 20 предъявлений за эксперимент). Обработку видеоданных проводили в оффлайн режиме. Для анализа выделяли часть экспериментальных данных: 200 мсек до предъявления центральной фиксационной точки и 1500 мсек после включения периферического стимула.

Мы продемонстрировали возможность создания и использования анатомически точного шлема для фиксации головы обезьяны. После начала использования новой системы предварительно обученная обезьяна продолжила выполнять задание и правильно отвечать на соответствующие стимулы. В выбранных попытках были успешно определены положение глаза и выделены саккады. По результатам нескольких сессий было воспроизведено положение всех периферических стимулов в поле зрения животного. Из этого мы делаем вывод о том, что предлагаемый способ неинвазивной фиксации головы дает надежные результаты в нейрофизиологических экспериментах с приматами и является менее травматичным для животного.

Список литературы.

1. Slater H., Milne A., Wilson B. et al. // J. Neurosci. Meth, 2016. V.269. P.46-60.
2. Evarts E.V. Methods for recording activity of individual neurons in moving animals. In: Rushmer R.F, editor. Methods in Medical Research. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers. 1968. P.241–250.
3. Lanz F., Lanz X., Scherly A. et al. // J. Neurosci. Meth, 2013. V.219(2). P.262-270.

ОЦЕНКА НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ МЫШЕЙ В МОДЕЛИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

Ярмиев И.З., Яковлева О.В.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Сахарный диабет (СД) представляет собой группу метаболических заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, вызванной нарушением секреции инсулина [1]. Долгосрочные осложнения СД включают повреждение средних и крупных сосудов, а также нефропатии, нейропатии и ретинопатии [1]. Хроническая дистальная сенсомоторная полиневропатия – самая частая форма диабетической невропатии, поражающая аксоны нервных волокон [2]. В клинической картине наиболее часто встречаются нарушения чувствительности, парестезий в нижних конечностях. Согласно

данным МРТ и томографии у пациентов с СД наблюдаются снижение серого вещества в гиппокампе и островковой коре, в лобных извилинах, а также снижение белого вещества в парагиппокампальной извилине, которые являются местном формирования долговременной памяти [3].

Целью нашей работы было исследование поведенческих реакций и когнитивных функций мышей в моделях СД 1 типа.

Для создания модели СД, использовали однократные внутривентрикулярные инъекции: аллоксана (200 мг/кг веса); стрептозоцина (100 мг/кг веса).

Для изучения поведенческих реакций мышей с СД проводился тест «Открытое поле» (ОП), проверка нарушений памяти у мышей с СД была выполнена при помощи теста «Водный лабиринт Морриса» [4,5].

Тест ОП представлял собой трехминутную сессию с записью следующих параметров: горизонтальная двигательная активность – количество пересечений квадратов; вертикальная двигательная активность – стойки на задних лапах; исследовательская активность – количество заглядываний в отверстия, груминг – количество актов умыывания и почесываний животного; время выхода из центра открытого поля и количество болюсов дефекации. В тесте «Водный лабиринт Морриса» животное обучается избеганию принудительного плавания путем нахождения платформы с запоминанием пространственных отношений во внешней среде.

У мышей с аллоксановой моделью СД достоверно снижается количество пересеченных квадратов, пройденных в ОП (71 ± 6 , $n=15$, $p < 0.05$), по сравнению с контрольной группой (97 ± 6 , $n=25$). У животных с стрептозоциновой моделью снижение горизонтальной двигательной активности было не достоверно (85 ± 6 , $n=15$, $p > 0.05$). Количество вертикальных стоек в обеих опытных группах снижалось (9 ± 2 и 9 ± 2 , $n=15$, $p > 0.05$), относительно контроля (13 ± 1 , $n=25$). Исследовательская активность животных достоверно снижается как для аллоксановой, так и для стрептозоциновой групп. Количество заглядываний в отверстия в аллоксановой группе составило 4.1 ± 0.7 ($n=15$, $p < 0.05$) и для стрептозоциновой 3.6 ± 0.8 ($n=15$, $p < 0.05$). Количество актов груминга достоверно увеличивалось в обеих опытных группах (4.3 ± 0.6 актов ($n=15$, $p < 0.05$), и 3.1 ± 0.2 актов ($n=15$, $p < 0.05$)), относительно контроля (2.2 ± 0.3 , $n=25$), что может отражать степень тревожности животного. Но количество болюсов дефекации и время выхода из центра, достоверно не отличались во всех группах. Таким образом, как в аллоксановой, так и в стрептозоциновой моделях (СД) наблюдается нарушение двигательной и исследовательской активности мышей, без изменения тревожно-фобического состояния.

В тесте «Водный лабиринт Морриса» процент обучившихся мышей в аллоксановой и стрептозоциновой группах составил 75% и 67% соответственно. Через час местонахождение платформы вспоминали 63% и 44% мышей, а через сутки только 25% и 33% соответственно. Для контрольной группы животных эти значения составили 89%, 78% и 67% соответственно. Таким образом, нами показано, что при хроническом СД 1 типа наблюдается нарушение формирования долговременной памяти у мышей, что может быть связано с органическими изменениями в структуре головного мозга.

Список литературы

1. American Diabetes Association, 2014
2. Gries, F.A., N. E. Cameron, P. A. Low. – Stuttgart: Thieme, 2003. – 394 pp
3. G. Musen, I. K. Lyoo, C. R. Sparks // Diabetes. 2006. V.55. P.326-333.
5. Коплик Е.В., Салиева Р.М., Горбунова А.В. // Журн. высш. нервн. деят. 1995. Т.45(4). С.775-781.
6. Sakata A, M. Mogi, J. Iwanami, K. Tsukuda, M. Min // Life Sciences. 2010. V. 86. P.638-645.

ПОЛНЫЙ ПЕРЕЧЕНЬ АВТОРОВ

1. Абрамов А.А.
2. Абрамова О.В.
3. Азаров Я.Э.
4. Альбова П.Е.
5. Арсланова А.Н.
6. Белов Д.Р.
7. Белова Е.М.
8. Берникова О.Г.
9. Богатова К.С.
10. Бондарь И.В.
11. Вишнякова П.А.
12. Войнова Е.С.
13. Воронина Я.А.
14. Гайнуллина Д.К.
15. Гатаулина Э.Д.
16. Герцен О.П.
17. Джуманиязова И.Х.
18. Дуркина А.В.
19. Еникеев Д.Р.
20. Ереско С.О.
21. Ермакова Е.В.
22. Закиров Ф.Х.
23. Заломаева Е.С.
24. Звягина Е.А.
25. Зиганшина А.Р.
26. Иванова А.Д.
27. Иванова А.М.
28. Иноземцева И.А.
29. Кабиольский И.А.
30. Каримова О.С.
31. Карпушев А.В.
32. Каюмова Р.М.
33. Климов Е.А.
34. Королева А.А.
35. Котова М.М.
36. Курмашова Е.Д.
37. Малолина Е.А.
38. Маломуж А.И.
39. Маршак А.З.
40. Маслюков П.М.
41. Милутинович К.С.
42. Михайлова В.Б.
43. Моисеев К.Ю.
44. Москалюк В.С.
45. Незвинский А.А.
46. Павлова Н.С.
47. Пестерева Н.С.
48. Рудько О.И.
49. Селиванова Е.К.
50. Сидоренко С.В.
51. Ситдикова Г.Ф.
52. Соколов О.Ю.
53. Спицын А.А.
54. Тюрин-Кузьмин П.А.
55. Тютюнник Т.В.
56. Ушакова В.М.
57. Филатова Т.С.
58. Фиронова Ю.С.
59. Хлебаева Д.А.-А.
60. Цветкова А.С.
61. Чечехин В.И.
62. Шамсиев И.Д.
63. Шахматова В.И.
64. Швецова А.А.
65. Яковлев А.В.
66. Яковлева О.В.
67. Ярмиев И.З.

СОДЕРЖАНИЕ ПО СЕКЦИЯМ

Пленарные лекции.....	5
Механизмы функционирования и регуляции работы сердца	6
Механизмы регуляции тонуса сосудов	20
Нейрофизиология: молекулярные и клеточные аспекты	36
Нейрофизиология: интегративные аспекты	53