

способностью эффективно тормозить опосредуемое IP3-рецепторами высвобождение Ca^{2+} в клетках различной тканевой принадлежности [4,5,7,10]. Активность IP3R в амнионе подтверждает действие U73122 (5 мкМ, 10 мин), ингибитора фосфоинозитид-специфической фосфолипазы C, который приводит к прекращению ритмической сократительной реакции амниона на КБХ и падению тонической реакции в 3 раза [2]. Приведенные данные свидетельствуют в пользу гипотезы о возможном ингибировании кофеином IP3 сигнального пути, опосредующего M3-холинергическую реакцию в амнионе куриного эмбриона.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-0400845.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бойко О.В., Манухин Б.Н.* // Онтогенез. 2009. 40. № 4. С. 254-60.
2. *Бойко О.В., Манухин Б.Н.* // Известия РАН. Сер. Биол. 2014. № 1. С. 1-5.
3. *Tazzeo T., Bates G., Roman H.N. et al.* // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2012. V. 303. № 4. P. L334-42.
4. *Kang S.S., Han K.S., Ku B.M. et al.* // Cancer Res. 2010. V. 70. № 3. P. 1173-83.
5. *Tsuchida K., Mizukawa Y., Urushidani T. et al.* // ISRN Pharmacol. 2013. V. 13: 207671.
6. *Umemura T., Ueda K. et al.* // Am. J. Cardiol. 2006. V. 98. № 11. P. 1538-41.
7. *Echeverri D., Montes F.R. et al.* // Int. J. Vasc. Med. 2010. V. 2010: 834060.
8. *Karaki H., Weiss B.* // Life Sciences. 1988. V. 42. № 2. P. 111-22.
9. *Prestwich S.A., Bolton T.B.* // Br. J. Pharmacol. 1995. V. 114. № 3. 602-11.
10. *Saleem H., Tovey S.C., Molinski T.F., Taylor C.W.* // Br. J. Pharmacol. 2014. V. 171. № 13. P. 3298-312.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ У ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКИХ ДОЗ ГОМОЦИСТЕИНА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

*Бурханова Г.Ф.¹, Герасимова Е.В.¹, Захаров А.В.^{1,2},
Хаертдинов Н.Н.¹, Ситдикова Г.Ф.¹*

¹Казанский Федеральный (приволжский) университет, Казань, РФ

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, РФ

Гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, синтезирующаяся из метионина и являющаяся одной из 8 незаменимых аминокислот организма.

Имеются данные о способности гомоцистеина вызывать тоническую стимуляцию NMDA-рецепторов – глутаматных рецепторов головного мозга. Такая стимуляция приводит к запуску глутамат-

кальциевого каскада: оксидативному стрессу, митохондриальной дисфункции, эксайтотоксичности и дефициту нейротрофических факторов [1]. Показано, что повышенный уровень гомоцистеина положительно коррелирует со степенью кортикальной церебральной атрофии, выраженностью атрофических изменений в гиппокампе [3] и количеством гиперинтенсивных очагов в белом веществе головного мозга [4,5]. В различных исследованиях было показано, что гомоцистеин оказывает токсическое влияние не только на нейроны, но и на эндотелий сосудов, что увеличивает вероятность возникновения церебральных расстройств. Различные наследственные и приобретенные нарушения в организме приводят к тому, что гомоцистеин не утилизируется и, накапливаясь в организме, приводит к возникновению гипергомоцистеинемии [2]. Данное нарушение метаболизма является фактором и/или маркером повышенного риска многих патологических состояний человека. Это вызывает серьезные опасения, касающиеся неврологических последствий у новорожденных подвергавшиеся воздействию высоких доз гомоцистеина в пренатальный период развития.

Целью данного исследования был анализ влияния высоких доз гомоцистеина в пренатальный период, на развитие рефлексов и электрическую активность коры головного мозга крыс.

Материалы и методы. Исследование проводилось на крысах линии Wistar обоих полов со второго [P2] (P0 = день рождения) до 8 дня после рождения. В опытную группу (n = 23) вошли животные от самок с гомоцистеинемией, в контрольную группу (n = 10) животные от здоровых самок.

Оценка формирования рефлексов у животных. Тест «Переворачивание на плоскости». Крысят помещали на спину на плоской поверхности, быстро отпускали и измеряли время, необходимое для возвращения в нормальное положение. Формирование рефлекса считается завершенным, если крысята возвращаются на все 4 лапы. Опыт проводили не более чем по 30 сек.

Тест «Отрицательный геотаксис». Крысят помещали на наклонную плоскость (25°) головой вниз. Рефлекс считался сформированным, если крысята поворачивались на 180°.

Электрофизиологический метод исследования. Под изофлурановой анестезией (1,5% с воздухом) проводили хирургическую подготовку к эксперименту. После операции животное переносилось в регистрирующую установку, где размещалось на термостатическом коврике (37-38°C) и оставлялось на час для выхода из наркоза. Хлорсеребряный электрод вводился в мозжечок или зрительную кору на глубину 2-3 мм, фиксировался к поверхности коры цианакриламидным клеем и служил объединенным земляным и референтным электродом.

Внеклеточная запись электрической активности мозга животных проводилась без какой-либо анестезии и/или при седативном эффекте небольшой концентрации уретана (0,2-0,4 г/кг).

Регистрация локальных полевых потенциалов (ЛПП), множественных потенциалов действия (МПД) производилась с помощью 16-ти канального зонда на кремниевой основе (Neuronexus Technologies, Ann Arbor, MI) с шагом 100 микрон между регистрирующими электродами. Зонд вводился в соматосенсорную кору перпендикулярно ее поверхности на глубину 1400 микрон, что позволяло одновременно регистрировать активность во всех слоях кортикальной колонки. Сигналы усиливались ($\times 1000$, частота пропускания 0,3 Гц – 5 кГц), с помощью усилителя Neuralynx (Neuralynx, Bozeman, MO). Оцифровку производили с частотой 10 кГц и сохранялись на компьютере для дальнейшего анализа. Анализ проводился с использованием программ пакета MATLAB (MathWorks, USA). Далее определяли «принципиальный» - основной - ус (PW) (ус, от которого в кортикальную колонку с электродом поступает сенсорный сигнал) по минимальной задержке возникновения МПД в 4 слое коры головного мозга. Регистрировали и спонтанную активность в кортикальной колонке.

Анализ электрофизиологических данных. Исходные данные обрабатывали с помощью авторских программ в среде компьютерной математики MATLAB. После оцифровки широкополосных электрофизиологических сигналов их частоту дискретизации уменьшали до 1000 Гц. Этот редуцированный сигнал в дальнейшем анализировали как локальный полевой потенциал (ЛПП). Положительнополярными сигналами считали отклонения, направленные на графиках вверх. Для детекции МПД исходный широкополосный сигнал фильтровали в диапазоне > 400 Гц. За ПД считали негативные события, превышающие по амплитуде 3 стандартных отклонения. Вызванным сенсорным потенциалом (ВСП) считали первую негативную дефлекцию потенциала (траф) в вызванном отклике гранулярного слоя коры (L4). Анализ вызванных осцилляций производили на отрезке длительностью 500 мс, следующем за ВСП. Частоту вызванных МПД оценивали в интервале 20-500 мс после ВСП, усредняя данные электродов находящихся в слое L4 (2-3 электрода). Оценку фоновой активности проводили в интервале 200 мс перед стимулом. Частоту спонтанных МПД рассчитывали как количество их в течение всей записи, отнесенное к длительности записи.

При анализе спонтанной активности оценивали частоту возникновения всех осцилляторных всплесков, всплесков с МПД и плотность МПД во время всплесков. За осцилляции принимали участки электрической активности с тремя и более дефлекциями, следующими с интервалом от 30 до 120 мс.

Статистический анализ включал методы описательной статистики, проверку нормальности распределения, среднего арифметического,

ошибки среднего. Сравнение средних проводили с помощью тестов Манна-Уитни.

Результаты исследования. Оценка скорости созревания сенсорно-двигательных рефлексов крысят в период вскармливания. При оценке состояния неврологического развития крысят отмечено значимое отставание в развитии некоторых рефлексов у опытной группы в сравнении с контрольными животными.

В тесте «переворачивание на плоскости» у контрольной группы рефлекс был сформирован к $3 \pm 0,85$ дню после рождения, а у опытной группы к $4 \pm 0,76$ ($p \leq 0,05$). В возрасте $P=8$ оценивали время выполнения сформировавшегося рефлекса (время возвращения на 4 лапы), результаты контрольной группы также достоверно отличались от опытной группы и составили $1,33 \pm 0,11$ и $1,93 \pm 0,31$ секунд, соответственно ($p \leq 0,05$).

В тесте «отрицательный геотаксис» рефлекс был сформирован у контрольной группы к $5,78 \pm 0,18$ дню после рождения, а у опытной группы к $6,19 \pm 0,16$ дню ($p \leq 0,05$).

Оценка электрической активности коры головного мозга новорожденных крысят. Исследования электрической активности коры головного мозга новорожденных крысят показали, что локальная механическая стимуляция усов вызывала комплексные ответы в топографическом локусе соматосенсорной коры. Ранний компонент (ВСП) состоял из негативного плеча с максимальной амплитудой в 4 слое коры и характеризовался МПД нейронов 4 слоя, возникающими с короткой временной задержкой. Средняя амплитуда сенсорного потенциала у животных контрольной группы составила в 4 слое коры – 538 ± 57 мкВ, латентный период – 40 ± 1 мсек, ($n = 7$), а у животных опытной группы – 701 ± 152 мкВ, латентный период – 39 ± 2 мсек ($n = 3$) ($p \geq 0,05$). Количество МПД во время возникновения ВСП также достоверно не изменилась (у животных контрольной группы $2,09 \pm 0,5$ событий/20 мс, а в опытной группе – $2,93 \pm 1,3$ ($p \geq 0,05$)).

Частота возникновения осцилляций при регистрации спонтанной активности у контрольных животных была достоверно ниже, чем у опытных и составила $11,66 \pm 0,8$ мин⁻¹ ($n = 7$) и $21,9 \pm 3,65$ мин⁻¹ ($n = 3$, $p \leq 0,05$), соответственно. Однако по остальным параметрам анализ спонтанной электрической активности в колонках контрольной и опытной групп показал отсутствие достоверных отличий. В контрольной группе частота возникновения осцилляций, сопровождающихся МПД, составила $3,05 \pm 0,62$ мин⁻¹ и МПД (в период вспышки) $139,98 \pm 36,82$ событий/с, а в опытной группе $2,63 \pm 0,81$ мин⁻¹ и $125,63 \pm 46,16$ событий/с ($p \geq 0,05$), соответственно.

Учитывая высокую вероятность возникновения нейротоксичности, вызванной высокими дозами гомоцистеина, у животных в период

пренатального развития, можно предположить, что отставание в созревании сенсорно-двигательных рефлексов у животных опытной группы связано с повреждениями ЦНС. Однако, наблюдаемые нами несущественные отличия в электрической активности сенсорно-моторной коры крысят, вынуждают предполагать избирательные изменения в ЦНС возникающие вследствие воздействия высоких доз гомоцистеина в пренатальный период развития животных.

Работа поддержана грантом РФФ № 14-15-00618.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Литвиненко И.В.* Болезнь Паркинсона. М: «Миклоп». 2006.
2. *Зоршова И.В., Суслина З.А., Иллариошкин С.Н., Кистенев Б.А.* // Атмосфера. Нервные болезни. 2004. № 4. С. 33-5.
3. *Den Heijer T., Vermeer S.E., Clarke R. et al.* // Brain. 2003. V. 126. № 1. P. 170-5.
4. *Dufouil C., Alperovitch A., Ducros V. et al.* // Ann. Neurol. 2003. V. 53. № 2. P. 214-35.
5. *Wright C.B., Paik M.C., Brown T.R. et al.* // Stroke. 2005. V. 36. P. 1207-11.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА ФТОРАЦЕТАТА НАТРИЯ

Гончаров Н.В.¹, Аникин И.В.², Тындык М.Л.², Войтенко Н.Г.¹

¹ФГБУ «Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова» РАН, СПб, РФ

²ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, СПб, РФ

Введение. Подавляющее большинство противоопухолевых препаратов ингибирует синтез ДНК опухолевых и нормальных клеток. В то же время имеется ряд других молекулярных мишеней для антинеопластиков, связанных, в частности, с энергетикой и метаболизмом клеток. Исследование механизма токсического действия фторацетата – метаболического яда, избирательно ингибирующего аконитазу, тормозящего дыхание и анаболические процессы – послужило основанием для проведения исследований его противоопухолевой активности. Фторацетат натрия (ФАН) вызывает дисбаланс ионов в клетках, осмотический дисбаланс и дефицит АТФ вследствие блокады митохондриальной аконитазы; накапливающийся цитрат хелатирует кальций, ингибирует фосфофруктокиназу и, как следствие, гликолиз [1]. Ранее в экспериментах *in vitro* нами было показано влияние ФАН на уровень пиридиновых нуклеотидов в митохондриях, мембранный потенциал и гомеостаз кальция в клетках эндотелия и асцитной