

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

Ярославское отделение Физиологического общества им. И.П. Павлова

Ярославское отделение Всероссийского научного общества анатомов,
гистологов и эмбриологов

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ НЕЙРОБИОЛОГИИ

*Материалы III международной научной конференции,
посвященной памяти
заслуженного деятеля науки РФ,
профессора Шилкина Валентина Викторовича*



**4 – 6 октября 2018 года
Ярославль**

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

УДК 612.8, 616.9

ББК 28.91

Современные проблемы нейробиологии. Материалы III международной научной конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора Шилкина Валентина Викторовича. – Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2018. – 90 с.

Редакционная коллегия:

Маслюков П.М. – доктор медицинских наук, профессор

Филиппов И.В. – доктор биологических наук, профессор

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

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

Моисеев К.Ю. – аспирант (редактор)

© федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2018 г.

ВВЕДЕНИЕ



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

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

В этом году мы посвящаем нашу конференцию памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора Шилкина Валентина Викторовича. Это не случайно, именно Валентин Викторович стоял у истоков проведения и организации этого мероприятия, а также всегда принимал в нем самое активное участие. Профессор В.В. Шилкин был выпускником Ярославского государственного медицинского института (1962 г.). В 1962-1965 гг. - аспирант кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии. С 1965 г. работал ученым секретарем Совета института, ассистентом (с 1966 г.), доцентом (с 1974 г.), в 1979-1985 гг. научным руководителем студенческого научного общества института, профессором (с 1983 г.), в 1985-1986 гг. деканом факультета повышения квалификации преподавателей медицинских училищ, в 1986-2000 гг. проректором по научной работе, заведующим кафедрой анатомии человека (1990-2012 гг.), с 2012 г. - профессором кафедры. В 1965 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Экспериментальная оценка пластики артериальных стволов протезами из терилена и возможности их использования в инфицированных тканях», в 1982 г. - докторскую диссертацию «Морфология и энзимохимическая организация рецепторов аортальной рефлексогенной зоны». Автор более 200

научных работ по актуальным проблемам морфологии, 5 книг и монографий, соавтор двух изобретений, ряда рационализаторских предложений. Подготовил 6 докторов и 11 кандидатов наук.

Профессор В.В. Шилкин был членом правления Всероссийского научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов. Член редакционных советов журналов «Морфология», «Морфологические ведомости». Лауреат Государственной научной стипендии Российской Федерации (1998-2003 гг.). Заслуженный работник науки РФ, Заслуженный работник высшей школы РФ. Награжден знаком «Отличнику здравоохранения», другими наградами.

Валентин Викторович был крупным ученым и крайне интересным человеком, всю свою жизнь вплоть до последних дней он посвятил вузовской науке и развитию научных исследований в нашем университете. Высокоэрудированная личность с острым пытливый умом, интересный лектор, прекрасный рассказчик с отличным чувством юмора, принципиальный и требовательный организатор, выдающийся ученый и руководитель, чуткий и отзывчивый человек, который всегда готов помочь - таким мы навсегда запоем Валентина Викторовича.

Мы искренне надееемся на то, что данная конференция и ее особый формат достойна памяти нашего коллеги, а материалы данного сборника вызовут интерес со стороны ученых, преподавателей и студентов, стимулируют углубление и дальнейшее развитие научного сотрудничества, послужат базой для дальнейшего прогресса в области современной нейробиологии.

Редколлегия

ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ И МЕТАБОЛИЗМА У КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МОДУЛИРОВАННОГО НИЗКОИНТЕНСИВНОГО СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ

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

¹ – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии
им. П.К. Анохина», Россия, Москва;

² – ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, Россия, Москва;

³ – ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет "МИФИ",
Россия, Москва

В последние годы большое внимание уделяется изучению действия электромагнитного излучения (ЭМИ) на человека. Характер влияния ЭМИ на адаптивные процессы часто рассматривается в аспекте комплексного взаимодействия экзогенных (природных или искусственных) и эндогенных (электромагнитное поле людей) источников излучения. Целью наших исследований явилось изучение показателей обмена веществ и поведения у крыс при воздействии ЭМИ сверхвысоких частот (СВЧ). СВЧ-излучение модулировалось частотами, типичными для импульсной активности нейронов мозга у животных при экспериментально вызванных отрицательных эмоциональных состояниях: «голода», «жажды» и «обороны».

Опыты проведены на крысах-самцах Wistar. Животных подвергали СВЧ-излучению на протяжении 23 ч. В работе использовали установку для изучения влияния слабых кодированных электромагнитных полей на биологические объекты DEMI. Частота СВЧ-излучения – 900 МГц. Антенна в виде четвертьволнового штыря располагалась вертикально. Уровень излучения – 100 мкВт/см², что в пределах клетки соответствовало 70 – 130 мкВт/см².

Интенсивность метаболизма у животных определяли с помощью автоматизированной модульной установки Phenomaster (TSE Systems GmbH, Германия). Двигательную активность – число пересеченных крысами лучей – регистрировали в двух плоскостях с помощью рамки из инфракрасных лучей ActiMot2. Непрямую калориметрию проводили с использованием модуля CaloSys, позволяющего измерять расход энергии с помощью датчиков газов для метаболического фенотипирования. Калориметрический показатель – уровень выделения животными тепла (кал/ч/кг) – рассчитывали по количеству потребляемого кислорода (мл/ч/кг) и выдыхаемого углекислого газа (мл/ч/кг). Питьевое и пищевое поведение крыс оценивали по объему выпитой воды (мл) и массе съеденного корма (г).

Установлено, что объем потребляемого крысами кислорода, выдыхаемого углекислого газа, а также интенсивность тепловыделения уменьшаются только при воздействии СВЧ-излучения с модуляцией частотами, характерными для оборонительного поведения.

При исследовании двигательной активности крыс в метаболических клетках наблюдалась тенденция к снижению данного показателя при воздействии всех типов ЭМИ. Однако статистически значимое уменьшение числа пересеченных животными лучей в экспериментальной установке выявлено лишь в условиях СВЧ-облучения, модулированного частотами, типичными для мотивации голода.

Неожиданные результаты получены при изучении пищевого и питьевого поведения крыс в условиях кодированного ЭМИ. Модуляция излучения частотами «голода» приводила к снижению потребления корма, а «жажды» – к уменьшению объема выпитой воды. По-

видимому, воздействие модулированного СВЧ-излучения с частотами, характерными для мотиваций голода или жажды, не оказывает ожидаемого «избирательного» действия на соответствующие центры головного мозга, а приводит к сложным системным реакциям, которые проявляются даже в противоположных эффектах на уровне целого организма.

Результаты наших исследований и опубликованные ранее данные указывают на то, что воздействие модулированного электромагнитного СВЧ-излучения оказывает выраженное влияние на физиологические показатели у крыс. Это проявляется, в частности, в изменении двигательной активности, пищевого и питьевого поведения, интенсивности обмена веществ. Выявленные изменения во многом зависят от частотных характеристик ЭМИ и являются одними из важнейших критериев активации сложных адаптационных процессов у млекопитающих под влиянием стрессогенных факторов внешней среды.

БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МИОКАРДИАЛЬНОЙ ТКАНИ РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ СЕРДЦА МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL6/CBA

Аверина О.А., Потехина В.М.

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

В настоящее время одной из важнейших тем исследований в области кардиологии является изучение механизмов возникновения и поддержания суправентрикулярных аритмий, а в частности, фибрилляции предсердий (ФП). В проведенных нами ранее экспериментах было показано, что из-за наличия спонтанной автоматической активности в препаратах легочных вен (ЛВ) и левого предсердия (ЛП) мышей линии C57Bl6/CBA данные животные возможно могут являться генетически обусловленной моделью ФП. Однако на сегодняшний день нет исследований, описывающих особенности биоэлектрической активности в различных отделах сердца мышей линии C57Bl6/CBA (в частности, значения потенциала покоя (ПП) и длительности потенциалов действия (ДПД), значений ЧСС и длительности P- и QRS-комплекса). В связи с вышесказанным, целью нашей работы было описать биоэлектрические характеристики в различных отделах сердца мышей линии C57Bl6/CBA.

В работе использовали самцов мышей линии C57Bl6/CBA массой 30 – 40 г. Регистрировали биоэлектрическую активность (потенциалы действия (ПД), потенциал покоя (ПП)) в многоклеточных изолированных препаратах ЛВ и ЛП, а также правого желудочка (ПЖ) с помощью стандартной микроэлектродной техники. Для регистрации ЭКГ в реальном времени у наркотизированной мыши использовали подкожные металлические электроды. Расположение электродов на теле мыши соответствовало II отведению по Эйнтховену у человека.

ПП в покоящихся препаратах ЛВ мышей линии C57Bl6/CBA составил -75 ± 3 мВ ($n=15$), в стимулируемых препаратах ПП поддерживался на таком же уровне ($n=15$). В стимулируемых препаратах левого предсердия мышей потенциал покоя составил -74 ± 4 мВ, что статистически значимо не отличалось от значения ПП в данных препаратах при отсутствии стимуляции, который составил -72 ± 5 мВ ($n=10$, $n=9$, соответственно). В препаратах ЛВ и ЛП в 90% случаев после отключения стимуляции возникала спонтанная автоматическая активность. В ЛВ такие потенциалы действия в 50% случаев имели ранние

постдеполяризации. В стимулируемых и в покоящихся препаратах ПЖ потенциал покоя составил -75 ± 3 мВ ($n=9$ в обоих случаях).

ДПД в препаратах ЛВ составила 9 ± 2 мс и 58 ± 7 мс (на уровне 50% и 90% реполяризации соответственно, $n=11$ в обоих случаях). В препаратах левого предсердия ДПД₅₀ была 7 ± 2 мс, ДПД₉₀ 27 ± 5 мс ($n=10$). В желудочковом миокарде ДПД₅₀ была 4 ± 1 мс, ДПД₉₀ 25 ± 3 мс ($n=5$).

ЧСС достигала 596 ± 15 уд/мин, длительность PR-интервала составила 0.03 ± 0.002 с, длительность зубца Р – $0,015 \pm 0,002$ с, а длительность QRS-комплекса – $0,009 \pm 0,001$ с (в каждом случае $n=8$). Данные значения параметров ЭКГ не отличались у мышей линии С57В16/СВА от контрольных животных. Также на ЭКГ, запись которой проводилась в течение 40 мин, никаких явных нарушений ритма обнаружено не было.

Таким образом, хотя у мышей линии С57В16/СВА обнаружена повышенная способность к формированию спонтанной активности в миокардиальной ткани ЛП и ЛВ, а также наличие ранних постдеполяризаций в миокарде ЛВ *ex vivo*, однако *in vivo* при регистрации ЭКГ никаких нарушений ритма нами не было выявлено. Таким образом, видимо, при нормальной работе сердца, а в случае изолированного препарата, то при стимуляции, существуют какие-то защитные механизмы, которые не дают проявляться аритмогенным свойствам. В случае же, нарушения проведения или отсутствия электрической стимуляции, вероятно, эти механизмы не работают и тогда возможно возникновение спонтанной активности и формирование аритмии. Однако данное утверждение требует дальнейшего исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-34-00931.

ВЛИЯНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ПЕПТИДНЫХ АГОНИСТОВ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИКОТИНА И ЭТАНОЛА

Алексеева Е.В., Судаков С.К.

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

Эндогенная опиоидная система (ОС) участвует в регуляции различных функций и состояний организма человека, в том числе болевых ощущений, эмоций, мотиваций и висцеральных функций. ОР широко распространены в головном и спинном мозге, а также в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и других органах. Нами была выдвинута гипотеза о реципрокном взаимодействии центрального и периферического звеньев эндогенной ОС. Подавление активности ее периферического звена приводила к активации центрального звена и наоборот. Было показано, что периферическое введение не проникающего через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) агониста ОР лоперамида приводит к изменению болевых реакций, эмоциональных состояний и пищевой мотивации.

Целью настоящего исследования было изучение влияния периферического введения пептидных агонистов мю-, дельта- и каппа-ОР на механизмы острого и повторяющегося действия алкоголя и никотина.

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Wistar, содержащихся при постоянном доступе к стандартному комбинированному корму и воде при свето-темновом режиме 12:12 часов. В работе использовались пептидные агонисты мю-ОР (DAMGO), дельта-ОР (DADLE) и каппа-ОР (ICI 204,448). Скорее всего, их введение непосредственно в желудок

может оказывать действие только на ОР желудка и 12-перстной кишки. Проникновение их в кровь при таком способе введения практически отсутствует.

Однократное введение этанола приводит к существенному снижению горизонтальной двигательной активности крыс в течение первых 60 мин наблюдения. Агонисты мю- и каппа-ОР (DAMGO и ICI 204,448) частично устраняют депрессивный эффект этанола в первые 90 мин. наблюдения. Наиболее выраженное влияние на сниженный уровень двигательной активности наблюдается при введении крысам агониста каппа-ОР ICI 204,448. Оба агониста, введенные совместно с физиологическим раствором, изменяют исследуемый показатель по сравнению с контрольной группой крыс незначительно. Введение вместе с этанолом DADLE или ICI 204,448 также приводило к существенному подавлению анальгетического действия этанола. Активация каппа-ОР желудка ускоряет формирование толерантности, а мю-ОР желудка, напротив, замедляет формирование толерантности к этанолу. Агонист дельта-ОР практически не оказывает никакого влияния на развитие толерантности к анальгетическому действию этанола. Можно сделать заключение, что состояние ОР желудка имеет существенное значение в проявлении действия этанола и развитию толерантности к его эффектам. Активация каппа-ОР, по-видимому, может замедлять развитие острых эффектов этанола, оказывать протрезвляющее действие и способствовать более быстрому развитию толерантности.

Введение никотина приводило к увеличению двигательной активности крыс. Введение ICI 204,448 совместно с никотином приводило к подавлению эффекта последнего. Хроническое введение никотина приводило к формированию зависимости, что вызывало появление синдрома отмены при прекращении его введения. У животных наблюдалось повышение двигательной активности и метаболизма, и снижение потребления пищи. Введение ICI 204,448 приводило к полному исчезновению признаков синдрома отмены.

Таким образом, регуляция активности ОР желудка, либо селективными агонистами, не проникающими через ГЭБ, либо пищевыми добавками или компонентами пищи, имеющими опиоидную активность, может модулировать эффекты этанола и никотина. Особенно перспективными в этом направлении являются каппа-ОР ЖКТ.

ВЛИЯНИЕ L-ЦИСТЕИНА НА ЭКЗО- И ЭНДОЦИТОЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ СОЕДИНЕНИИ У МЫШЕЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

*Альбова П.Е., Зиганшина А.Р., Ярмиев И.З., Богатова К.С., Яковлева О.В.
Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ, Казань, Россия*

Сахарный диабет (лат. diabetes mellitus) – это группа эндокринных заболеваний, развивающихся вследствие недостаточности гормона инсулина, в результате чего развивается гипергликемия. Сахарный диабет приводит к множеству серьезных осложнений, одним из таких является поражение периферической нервной системы, которое проявляется мышечной слабостью, уменьшением чувствительности, параличами и атрофией. Данные симптомы могут быть вызваны как нарушением на уровне спинного мозга (работы нервных центров спинного мозга и двигательных нервных волокон), так и изменениями в нервно-мышечном синапсе и в мышечной ткани. L-цистеин – серосодержащая аминокислота, является субстратом синтеза эндогенного сероводорода (H₂S) в клетке. Сероводород синтезируется из L-цистеина либо

цистатионин-бета-синтазой (CBS), либо цистатионин-гамма-лиазой (CSE), с использованием витамина В6 (пиридоксального 5'-фосфата) в качестве кофактора. Сероводород, продуцирующийся в нервно-мышечном соединении, участвует в регуляции секреции медиатора у теплокровных и холоднокровных животных. Целью данной работы является изучение роли L-цистеина, как эндогенного донора H₂S в регуляции процессов эндо- и экзоцитоза синаптических везикул в нервно-мышечном соединении.

Эксперименты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы лабораторных белых мышей. Использовали флуоресцентный маркер FM 1-43 (3 мкМ), который обратимо связывается с пресинаптической мембраной и во время эндоцитоза синаптических везикул оказывается внутри нервной терминали («загрузка» терминали). Для исследования процессов эндоцитоза синаптических везикул в двигательном нервно-мышечном окончании проводилась загрузка красителя по трем протоколам: «полная» – краситель присутствовал в ванночке во время 1 минуты раздражения при частоте 50 Гц и в течение 7 минут после стимуляции; «во время» – краситель присутствовал во время 1 минуты раздражения; «после» – краситель присутствовал в ванночке в течение 7 минут после стимуляции. Для исследования процессов экзоцитоза предварительно окрашенные нервно-мышечный препарат стимулировали двигательный нерв с частотой 50 Гц в течение 20 мин., анализируя снижение интенсивности флуоресцентного свечения нервного окончания.

Для создания экспериментальной модели сахарного диабета белым лабораторным мышам внутрибрюшинно вводился аллоксан, в расчете 250 мг/кг веса.

У животных с сахарным диабетом при протоколе загрузки «полная» свечение нервных терминалей составило 95 ± 3 о.е. (n=70), при протоколе «во время» – 99 ± 2 о.е. (n=74), при протоколе «после» – 63 ± 2 о.е. (n=73). При обработке препарата раствором L-цистеина было показано, что свечение терминалей диафрагмальной мышцы было ниже, чем в контроле при протоколах загрузка «полная» и «во время», и выше при протоколе «после», и составило при протоколе «полная» 79 ± 2 о.е. (n=72), при протоколе «во время» – 78 ± 1 о.е. (n=71), при протоколе «после» – 67 ± 1 о.е. (n=71).

У животных с сахарным диабетом при разгрузке красителя значения скорости обесцвечивания к 10 сек составили $86 \pm 3\%$, к 60 сек – $65 \pm 3\%$, к 10 мин – $9 \pm 2\%$. При обработке нервно-мышечного препарата L-цистеином наблюдалось замедление обесцвечивания нервных терминалей до $89 \pm 3\%$ к 10 сек, а к 60 сек и 10 мин до $77 \pm 5\%$ и $21 \pm 3\%$, соответственно.

При сахарном диабете L-цистеин сохраняет свои эффекты, как на процессы эндо- и экзоцитоза, таким образом мы можем говорить о сохранении активности ферментов синтеза эндогенного сероводорода.

ВЛИЯНИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ МЫШЕЙ

*Арсланова А.Н., Александрова А.Ю., Новоселова В.А., Яковлева О.В., Яруллина Д.Р.
Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

Введение. Кишечную микробиоту составляют около тысячи видов бактерий, которые помогают поддерживать динамическое и метаболическое равновесие в организме. Микрофлора может напрямую влиять на гомеостаз, поддерживая сократительную функцию

кишечника, а также стимулируя иммунитет и синтезируя некоторые витамины и гормоны. Относительное изобилие и разнообразие микробиоты существенно влияет на развитие мозга. Изменение микробиоты нарушает функционирование иммунной, нервной и эндокринной систем и способствует различным заболеваниям. Состав микрофлоры изменяется при таких заболеваниях, как депрессия, синдром раздражённого кишечника и аутизм.

Целью данного исследования было сравнение поведенческих реакций мышей в контроле и при изменённой микробиоте.

Объект исследования: мыши в возрасте 20 дня жизни, разделенные на группы: 1) Контрольные мыши (К, n=10), получавшие инъекции физиологического раствора; 2) Опытная группа мышей, получающих инъекции антибиотиков (АБ, n=10); 3) Опытная группа мышей, получающих инъекции антибиотиков и с добавлением в питьевую воду лактобацилл (АБ+ЛБ, n=10). Внутривентрикулярные инъекции антибиотиков (Неомицин 2 мг/доза, Ванкомицин 4 мг/доза, Амфотерицин В 0.2 мг/доза, Ампициллин 2 мг/доза, Метронидазол 1 мг/доза), физиологического раствора и добавление лактобацилл в питьевую воду в концентрации (4×10^6 кл/доза) делали в течении 2-х недель. Тесты проводили до начала и после (К, АБ, АБ+ЛБ) курса инъекций. Для оценки тревожности и сенсорно-моторной функции животных использовались следующие тесты: Открытое поле, Тёмная и белая камера, Ротарод, Т-образный лабиринт, Новый Объект и Интегральный Показатель Тревожности. Статистический анализ проводился с помощью непараметрического теста Kruskal-Wallis ANOVA.

Результаты. У животных контрольной группы не наблюдалось изменений, что показывает снижение тревожности у животных данной группы. 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). У АБ группы наблюдалась повышенная эмоциональность: увеличение количества актов груминга и болюсов дефекации, снижение времени выхода животного из центра. Время, проведенное в тёмном отсеке, коррелирует с уровнем тревожности, тогда как время обследования светлого отсека – показатель склонности к риску. Введение антибиотиков снижало время, проведенное в светлом отсеке (с $68,3 \pm 14,1$ до $35,2 \pm 21,4$ с). Мыши АБ группы показали увеличение ИПТ с $0,31 \pm 0,29$ до $0,77 \pm 0,32$ баллов. У животных АБ+ЛБ группы не наблюдалось изменений ИПТ за все время исследования ($0,25 \pm 0,17$ и $0,25 \pm 0,22$ с).

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. Также наблюдается ухудшение памяти животных. Одновременное введение лактобацилл и инъекций антибиотиков предотвращало наблюдаемые изменения, что свидетельствует о положительном эффекте нормальной микрофлоры на сенсорно-моторную функцию мышей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-415-160005 в рамках Программы повышения конкурентоспособности КФУ.

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ КОФЕИНА НА ПОВЕДЕНИЕ И ОБУЧЕНИЕ ПОТОМСТВА КРЫС

*Башкатова В.Г., Богданова Н.Г., Алексеева Е.В., Назарова Г.А.
ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, Москва, Россия*

В последнее время проблема употребления психоактивных веществ не по медицинским показаниям, становится все более актуальной. В литературе имеются данные, что употребление кофеина в высоких дозах может увеличивать риск неоптимального протекания и исхода беременности. Известно, что это может вести к преждевременным родам, задержке развития и нарушениям поведения у потомства. У таких детей часто наблюдаются повреждения внимания, усвоение информации, что проявляется уже в раннем возрасте и впоследствии ведет к большим нарушениям развития и эмоциональным расстройствам. Вместе с тем, нейрофизиологические эффекты постнатального онтогенеза у экспериментальных животных, подвергнутых пренатальному воздействию кофеином, остаются во многом неизученными. Целью данного исследования было изучение влияния длительного пренатального введения кофеина на поведение и обучение крыс в постнатальном онтогенезе.

Эксперименты были выполнены на молодых крысах-самцах линии Вистар возраста 40 – 45 дней. Эксперименты проводились в соответствии с требованиями приказа № 267 МЗ РФ (19.06.2003 г.). Для проведения экспериментов крысы были разделены на 2 группы. В экспериментальную группу вошли молодые крысы, рожденные от самок, получавших в течение всего срока беременности раствор кофеина (1 г/л стандартной бутилированной питьевой воды) в качестве единственного источника жидкости. Контрольную группу составили молодые крысы, полученные от самок крыс, которые пили на протяжении всего срока беременности только стандартную бутилированную питьевую воду. Уровень тревожности крыс оценивали по длительности их нахождения на открытых лучах приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) в течение 5 минут. Горизонтальную двигательную активность определяли по общему числу пересеченных квадратов во всех рукавах, включая центральную зону ПКЛ. Для оценки пространственной памяти и обучения у крыс использовали водный лабиринт Морриса в стандартной модификации.

При исследовании поведения животных в тесте ПКЛ было установлено, что у крыс, которым пренатально вводили кофеин, уровень тревожности, оцениваемый по времени нахождения на открытых рукавах ПКЛ, не отличался от значений данного показателя контрольных животных. При этом обнаружено, что пренатальное введение кофеина приводило к выраженному увеличению горизонтальной двигательной активности крыс-самцов по сравнению с значением данного показателя в контрольной группе животных. Показано, что молодые крысы, рожденные от матерей, получавших во время беременности кофеин, быстрее находили подводную платформу в лабиринте Морриса, что свидетельствует о том, что способность к формированию пространственной памяти у опытной группы развита лучше, чем у контрольной группы животных.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-00722.

ГЕТЕРОХРОННОСТЬ СТАНОВЛЕНИЯ В РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЦА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

*Билалова Г.А., Ситдииков Ф.Г., Дикопольская Н.Б., Шайхелисламова М.В., Доценко А.В.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Становление нейрогуморальных влияний на частоту и силу сердечных сокращений происходит в разные сроки, что показано на крысах разного возраста. Симпатические влияния на хронотропную функцию сердца реализуются через α и β -адренорецепторы. Известно, что в процессе дифференцировки ткани число одного типа и соотношение между типами адренорецепторов с возрастом меняется. При развитии симпатической регуляции сердца уменьшается чувствительность обоих типов адренорецепторов, и популяция β -адренорецепторов является доминирующей.

В наших исследованиях определялось участие адренорецепторов в регуляции инотропной функции сердца. Эксперименты проводились на белых беспородных крысах в возрасте 21-день (позднемолочный период), 56- (пубертатный период) и 100-дней (половозрелые животные). Для анализа данных регистрировали дифференцированную реограмму и электрокардиограмму. Осуществляли электрическую стимуляцию правого звездчатого ганглия током 10Гц и 5В при блокаде β -адренорецепторов – обзиданом.

Контрольная стимуляция звездчатого ганглия вызывает увеличение ЧСС и уменьшение УОК во всех трех группах крыс. У 21-, 56- и 100-дневных крыс УОК снизился на 15%, 19% и 17% соответственно. Стимуляция правого звездчатого ганглия после блокады β -адренорецепторов обзиданом у 21-дневных крысят привела к снижению УОК на 30%, что в течение 10 мин не восстанавливался. УОК у 56-дневных крыс снижается на 15% и восстанавливается к 5 мин после стимуляции. У 100-дневных животных при блокаде обзиданом в ответ на стимуляцию звездчатого ганглия УОК увеличивается на 5%. В результате полученных данных реакция УОК на стимуляцию звездчатого ганглия в контроле и после блокады β -адренорецепторов оказалось разнонаправленной. В контроле стимуляция звездчатого ганглия вызывала снижение УОК во всех исследованных группах животных и такая же реакция наблюдалась после блокады β -адренорецепторов у 21- и 56-дневных крыс. У 100 дневных крыс при этом произошло увеличение УОК, что подтверждает возрастающую роль α -адренорецепторов в регуляции сердца с возрастом.

ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АРХИТЕКТУРЫ ПЕРВИЧНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ КОШКИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРОПОФОЛА

Бондарь И.В., Бугрова В.С., Иванов Р.С.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
г. Москва
email: bondar@ihna.ru*

Базовые свойства нейронов первичной зрительной коры – чувствительность к ориентации отрезков линий и направлению движения – позволяют этим клеткам определять границы движущихся зрительных объектов и отслеживать их перемещения в пространстве.

осуществляли в промежутки между курсовыми введениями на 14, 21, 35, 60, 74 и 90 суток. В контрольную группу входило 35 ложнолеченных крыс самцов: 14, 21, 35, 74 и 90 суток жизни (n=5). Nes выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител (ab105389, UK, 1:100). Обработку полученных микрофотографий проводили с помощью ImageJ- Fiji (НИН) 1.51h. Для оценки экспрессии проводили пороговую сегментацию изображений, через функции Auto Threshold, Auto Local Threshold с применением алгоритмов «Auto Threshold» и «Auto Local Threshold» и анализом частиц «Analyze Particles». Для вариационного анализа применяли программу Microsoft Office Excel 2010. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента, уровень значимости различий $p < 0,05$.

В наших ранее проведенных исследованиях на плодах и новорожденных крысятах установлено, что Nes экспрессируется в плодном периоде и до 14 суток. Максимальная активность нестина наблюдается на 3 – 5 сутки. Nes обнаруживается во всех слоях ОЛ, с максимальной экспрессией в гломерулярном и субэпендимальном. По морфологии Nes+ клетки мелкие, округлой или полигональной формы с множественными отростками направленными кнаружи ОЛ. С 14 до 21 суток экспрессия Nes практически угасает, остаются одиночные интрагломерулярные клетки по 2 – 5 на гломерулу. В экспериментальной группе введение Семакса не нарушает характер распределения Nes+ структур. У 14 суточных крысят Nes+ клетки вместе с капиллярами формируют ретикулярные ассоциации вокруг гломерул с лидирующими отростками, направленными в сторону митрального и наружного плексиформного слоёв. По сравнению с контрольной группой, численная плотность Nes+ структур у животных, получавших Семакс, на 14 сутки повышается в 2,75 раза и сохраняется во всех слоях ОЛ. К 21 суткам Nes+ структуры выявляются также во всех слоях ОЛ, соответствуя в целом показателям 7 суточных контрольных крысят. В последующие сроки позитивные клетки регистрируются только в субэпендимальном слое до 35 суток жизни.

Выводы: в контрольной группы Nes экспрессируется до 14 суток жизни. Введение Семакса пролонгирует экспрессию до 35 суток. Дальнейшее введение нейропептида не приводит к реэкспрессии маркера промежуточных филаментов. Нейростимуляция не приводит к экспрессии Nes в типичных астроцитах и эпендимоцитах, что описано для Кирик О.В. и др. (2010) в ответ на ишемическое повреждение головного мозга. Вероятно, Семакс усиливает продукцию прогениторных клеток в головном мозге, но не влияет на их дифференцировку.

ПАРАМЕТРЫ ИЗОБРАЖЕНИЙ ЛИЦ И ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ НИЖНЕЙ ВИСОЧНОЙ КОРЫ ОБЕЗЬЯН

Васильева Л.Н.¹, Расс Б.², Кояно К.², Леопольд Д.², Бондарь И.В.¹

¹ – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

² – Национальный институт психического здоровья, Национальные институты здравоохранения, Бетесда, США

Лица являются особой категорией зрительных стимулов, которые играют важную роль в социальной жизни приматов. Недавние исследования обнаружили четко организованную сеть участков в нижней височной области обезьян (Harries, Perrett, 1991; Tsao et al., 2008) и человека (Pinsk et al., 2005; Popivanov et al., 2012), селективно отвечающих на лица. Детальное

исследование роли различных узлов обработки информации о лицах позволяет предположить разделение ролей между ними (Freiwald, Tsao, 2010). В данной работе исследовали зрительные вызванные потенциалы, зарегистрированные в трех различных участках нижней височной коры (AF, AM или ML), на сложные изображения у трех макак-резусов (A, M и S). Для исследования активности нижней височной коры использовали три набора стимулов: Inv, AB и C. В каждом из наборов стимулы были организованы в категории (от 8 до 12), в которых были объединены изображения обезьян и других животных в разных естественных ситуациях: груминг, агрессия, игра, группа, спаривание, детеныш и т.д. Отдельную категорию составляли изображения лиц. В наборе C содержались лица обезьян разного возраста: детеныши, подростки, взрослые. Каждое изображение было представлено квадратами трех размеров: $3.83^\circ \times 3.83^\circ$, $7.66^\circ \times 7.66^\circ$ или $15.3^\circ \times 15.3^\circ$. Каждое изображение в среднем в ходе одной экспериментальной сессии предъявляли животным по 30 – 35 раз. Нейрофизиологическую активность регистрировали с помощью пучков нихромовых микропроводов, доступных коммерчески (Brush Arrays, Microprobes for Life Sciences, Inc.). Электрофизиологическую запись подвергали частотной фильтрации в диапазоне 1 – 100 Гц и снижали частоту оцифровки до 1 кГц. Из записи выделяли вызванные ответы длительностью 800 мс, которые усредняли для каждого стимула и использовали в дальнейшем анализе. Средние формы ВП были подвергнуты анализу методом главных компонент, а значения коэффициентов первой и второй главных компонент были взяты для кластеризации с помощью алгоритма k-средних с метрикой Отиаи в качестве меры расстояния. Анализ набора Inv показал, что три исследованных участка нижней височной коры выделяют лица детенышей в отдельную категорию стимулов с очень высокой вероятностью (80 – 95%). В наборе AB были представлены среди прочих лица взрослых макак, детенышей макак и лица обезьян других видов. Кластерный анализ средних ВП этого набора показал, что и в этом случае ответы на лица отделяются от ответов на другие категории стимулов, причем ответы на изображения обезьян других видов вычленил легче всего. Во время анализа категориальных наборов данных мы учитывали всю форму ВП, и нам удалось разделить вызванные ответы на группы, соответствующие категориям стимулов. Для данных набора C был проведен пермутационный анализ между формами ВП на разные группы стимулов (Anderson et al., 2008) с целью выделения компонента, чувствительного к возрасту изображаемой особи и размеру изображения. Компонент с пиком в интервале 135 – 145 мс с момента предъявления стимула оказался чувствителен к указанным параметрам стимула. Двухфакторный дисперсионный анализ с амплитудой выбранного компонента в качестве зависимой переменной и с двумя факторами (возрастом изображаемой особи и размером изображения) показал значимое влияние и возраста, и размера изображения на амплитуду ответа и отсутствие взаимодействия между факторами. Узлы обработки информации о лицах в нижней височной коре обнаруживают повышенную чувствительность к лицам, нежели к другим категориям сложных стимулов. Тонкие различия в структуре лицевого стимула влияют на амплитуду отдельных компонентов ВП.

РАЗЛИЧИЕ СВОЙСТВ СЕРОТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ КОМАНДНЫХ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ У ОБУЧЕННЫХ И ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ

*Гайнутдинов Х.Л.¹, Андрианов В.В.¹, Богодвид Т.Х.^{1,2}, Винарская А.Х.³,
Головченко А.Н.¹, Дерябина И.Б.¹, Муранова Л.Н.¹, Силантьева Д.И.¹*

¹ – *Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального
университета, Казань;*

² – *Академия физической культуры, спорта и туризма, Казань;*

³ – *Учреждение Российской академии наук Институт высшей нервной деятельности и
нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

E-mail: kh_gainutdinov@mail.ru

Одна из наиболее интригующих интегративных функций мозга – это его способность хранить информацию, полученную в опыте, и вспоминать большую его часть. Память можно определить как процесс, состоящий в запоминании, хранении и воспроизведении приобретенного опыта. Важным аспектом для процессов обучения является нейромодуляция, которая необходима для формирования долговременной памяти. Установлено, что серотонин (5-НТ) является основным медиатором, который опосредует оборонительное поведение у моллюсков и обучение на основе оборонительных рефлексов. Кроме хорошо известной роли 5-НТ как медиатора в синаптической передаче было показано, что он может выполнять интегративные функции при выделении его во внеклеточную среду. Эти результаты послужили основой для применения аппликации 5-НТ в омывающий раствор в качестве подкрепляющего стимула для создания клеточных аналогов обучения. Показано, что аппликация 5-НТ ведет к увеличению продолжительности ПД, что опосредуется рецепторами 5-НТ первого типа, которые блокируются антагонистом 5-НТ рецепторов метиотепином. Также показано, что антагонист 5-НТ рецепторов миансерин блокирует две формы оборонительного поведения *Lymnaea*, вызываемых безусловным стимулом (экстрактот ткани рака), а другой антагонист 5-НТ рецепторов, метилсергид, блокирует формирование долговременной памяти после обучения. 5-НТ, так же как и антагонист серотониновых рецепторов метиотепин, предотвращают посттетаническую потенциацию вызванного ацетилхолином входящего тока поведенческую сенситизацию у улиток. На соматических премооторных интернейронах виноградской улитки, которые являются объектом нашего исследования, были найдены рецепторы 5-НТ первого типа (Пивоваров с сотрудниками, 2003-2014).

В данной работе мы провели сравнительное исследование изменений возбудимости на командных нейронах виноградской улитки в ответ на аппликацию серотонина или предшественника его синтеза 5-НТР на препаратах интактных и обученных животных, а также на препаратах улиток, инъецированных нейротоксическим аналогом серотонина 5,7-ДНТ. Было найдено, что аппликации 5-НТ или 5-НТР вызывают значительное уменьшение мембранного потенциала премооторных интернейронов интактных улиток, ассоциативно обученных улиток и улиток, инъецированных селективным нейротоксином для серотонинергических нейронов (5,7-ДНТ) за неделю до экспериментов. Аппликации 5-НТ или 5-НТР не вызывают значительных изменений порога генерации потенциала действия премооторных интернейронов интактных улиток. В то же время аппликации 5-НТ или 5-НТР вызывают значительное возрастание порога генерации потенциала действия премооторных

интернейронов премоторных интернейронов ассоциативно обученных улиток и у улиток, инъецированных 5,7-DHT.

Работа поддержана РФФИ (грант № 18-015-00274_a).

ОЦЕНКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ШОВНОГО МАТЕРИАЛА, МОДИФИЦИРОВАННОГО ДИКЛОФЕНАКОМ, ДЛЯ ШВА НЕРВА

*Головачева У.Е., Барабанов И.Е., Кожевина А.В., Ткаченко А.В., Хвастова А.В.
Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия*

Актуальность: При повреждении нерва и воздействии шовного материала запускается механизм воспаления. Оксид азота – свободный радикал, образующийся под действием ферментов NO-синтаз. В высоких концентрациях NO токсичен, обеспечивая цитотоксический и цитостатический эффекты. Индуцибельная NO-синтаза (i-NOS) является медиатором воспаления при иммунном ответе. Эндотелиальная NO-синтаза (e-NOS) поддерживает сосудистый гомеостаз.

Научная новизна: Создан шовный материал с адгезией молекул диклофенака – нестероидного противовоспалительного препарата.

Цель исследования: Оценить плотность распределения ферментов NOS при действии обычного и модифицированного шовных материалов на зону повреждения.

Материалы и методы: Животные были разделены на 2 группы: контрольную (4 животных) и экспериментальную (4 животных). Была создана модель послеоперационной раны: седалищный нерв крысы прошивался шовным материалом – полипропиленом 8/0 и полипропиленом 8/0 с обработкой диклофенаком. Производили забор прошитой части нерва через 7, 14 и 28 суток после операции. Изготавливались парафиновые срезы, производилась постановка иммуногистохимической реакции на e-NOS и i-NOS. Оценивалась площадь распределения ферментов в зонах повреждения и швов в программе Image G. Статистические данные были получены с помощью Statistica 10.

Результаты и их обсуждение: Установлено, что уровень экспрессии e-NOS в контрольной группе превышал данные показатели в экспериментальной группе на всех сроках забора материала. К 14 суткам в контрольной группе этот показатель достигал своего максимума. (55,92 мкм²), в то время как в экспериментальной группе пиков не наблюдалось. Уровень экспрессии i-NOS так же выше в контрольной группе на всех сроках по сравнению с экспериментальной. На 14 сутки наблюдается подъем значений в контрольной и экспериментальной группах, но он был меньше в экспериментальной группе на 55%. К 28 суткам эти показатели снижаются в обеих группах, но в экспериментальной группе они уже меньше на 61% по сравнению с контрольной.

Выводы: Экспрессия e-NOS выше в контрольной группе на всех сроках исследования, обуславливающая истощение эндотелия, в то время как в экспериментальной группе наблюдалась повышенная его синтетическая активность, не зависящая от дополнительной выработки e-NOS. Каждая морфологическая фаза воспаления четко отражена экспрессией i-NOS: фаза альтерации (7 день), инфильтрации (14 день), пролиферации (28 день). При этом, выраженность воспалительной реакции меньше в экспериментальной группе по сравнению с контрольной, что уменьшает формирующуюся рубцовую ткань, препятствующую прорастанию нервных волокон.

СПЕЦИФИКА АКТИВАЦИИ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА У СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМИ ЛАТЕРАЛЬНЫМИ ПРЕДПОЧТЕНИЯМИ ПРИ РЕШЕНИИ ИНТЕЛЕКТУАЛЬНЫХ ЗАДАЧ

Гребенчиков Е.С., Николаева Е. И., Мышкин И.Ю.

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

Исследования участия полушарий головного мозга в познавательных процессах давно ушли от простого дихотомического деления активности полушарий в тех или иных задачах (Corser, Jasper, 2014). Стало очевидно, что практически в каждой деятельности участвуют оба полушария, хотя их активность может существенно различаться.

Изучение активности полушарий усложняется также за счет наличия связи центральной асимметрии (асимметричного функционирования полушарий головного мозга в той или иной деятельности) со спецификой проявления периферической асимметрии – асимметричной включенности в деятельность парных органов – рук, ног, глаз, ушей (Nikolaeva, Leutin, 2011). Более того, кроме наличия выраженной асимметрии, то есть выраженности в общем профиле преимущественно левых или правых признаков, различают кросс-латеральность, состоящую в том, что преимущество левого и правого неодинаково представлено в сенсорной и моторной сферах (Glosman, 2018). В связи с тем, что в большинстве работ по изучению активации полушарий в процессе когнитивной деятельности используются разные методы определения латеральности, используются различные показатели латеральности и неодинаковым образом охватываются все возможные признаки, сравнение работ крайне затруднено. Более того, часть исследований обращается к пробам, которые показывают реальную картину выполнения тех или иных действий испытуемым, а часть использует опросник, обращенный к самооценке испытуемого, это еще более усложняет сравнение исследований двух типов.

В данной работе была поставлена задача ЭЭГ изучения активации полушарий мозга у студентов с разными латеральными предпочтениями, которые определялись с помощью проб, оценивающих отдельно ведущие руку, ногу, глаз, ухо и совокупный профиль функциональной асимметрии.

В настоящей работе представлены данные пилотажного исследования 10 испытуемых, из которых 2 имели левый профиль функциональной сенсомоторной асимметрии. Было обнаружено, что у студентов с левым профилем β -ритм высокой частоты при решении когнитивных задач выражен в левом (затылочной части) и правом полушарии (лобной части). У студентов с правым (6 испытуемых) и смешанным (2 испытуемых) профилем β -ритм высокой частоты при решении задач обнаружен только в левом полушарии.

Эти данные согласуются с представлением о том, что специализация функций есть только у людей с правым профилем, тогда как у людей с левым профилем каждая функция представлена в двух полушариях (Голдберг, 2003). Этот тезис будет проверен в дальнейшем на большей выборке.

АНАТОМО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ ФОРМИРОВАНИЯ ШИЛОПОДЪЯЗЫЧНОГО СИНДРОМА

Давыдова Л.А., Рыжкова А.В.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Шиловидный отросток височной кости (ШОВК), шилоподъязычная связка, малые рога подъязычной кости функционально объединяются в шилоподъязычный комплекс (ШПК). Шилоподъязычный синдром (ШПС) – набор клинических симптомов, связанных с удлинением или искривлением ШОВК, полным или частичным окостенением шилоподъязычной связки с образованием суставоподобных сочленений. При совместном окостенении ШОВК и шилоподъязычной связки образуется гигантский шиловидный отросток (мегастилоид). Сосудисто-нервный пучок шеи анатомически тесно связан с ШОВК. Дистальная часть отростка проходит в окологлоточном пространстве вдоль стенки глотки. Сзади и с боков к отростку прилежат внутренняя сонная артерия, внутренняя яремная вена, IX, X, XI, XII черепные нервы. Спереди отростка располагается наружная сонная артерия, а его верхушка находится на расстоянии нескольких миллиметров от боковой стенки глотки. Заостренный конец удлиненного и искривленного ШОВК раздражает окружающие его нервные, сосудистые и мышечные структуры. В зависимости от того, какое из расположенных в непосредственной близости образований подвергается воздействию верхушки отклоненного отростка, выделяют два подвида ШПС: шиловидно-глоточный и шиловидно-каротидный или «синдром сонной артерии». При шиловидно-глоточном синдроме вследствие раздражения глоточного нервного сплетения возникают боли в глотке, полости рта. Развитие шиловидно-каротидного синдрома связано с тем, что кончик удлиненного ШОВК оказывает давление на внутреннюю или наружную сонные артерии, область бифуркации общей сонной артерии и раздражает периартериальное симпатическое сплетение, вызывая боли в зоне кровоснабжения данных артерий.

Цель исследования: изучить анатомо-морфологические особенности структур ШПК; определить параметры ШОВК (длину, толщину, его направление относительно сагиттальной и фронтальной плоскости, величину угла отклонения отростка); изучить параметры ШПК у пациентов с клиническими проявлениями ШПС.

Исследования проведены на 14 черепах человека из коллекции кафедры нормальной анатомии БГМУ. Изучены компьютерные томограммы (КТ) пяти пациентов лечебных учреждений г. Минска, у которых отмечены аномалии в строении ШПК. Для решения поставленных задач использованы морфометрический и статистический методы. Для клинических случаев измерения проводились при помощи программы Osirix. Результаты исследования костного материала показали, что средняя длина левого ШОВК составила $26,5 \pm 8,5$ мм, правого – $25,3 \pm 12,2$ мм. Средняя толщина левого отростка у основания – $17,4 \pm 6,4$ мм, правого – $15,5 \pm 5,7$ мм. Угол отклонения левого отростка в переднезаднем направлении составил $26,1 \pm 4,4^\circ$; правого – $27,2 \pm 7,6^\circ$. ШОВК были искривлены, преимущественно в медиальную сторону (55,6%). Результаты исследования КТ пациентов показали, что средняя длина левого отростка составила $40,8 \pm 21,1$ мм, а правого – $34,2 \pm 23,1$ мм. Средняя толщина левого отростка – $5,75 \pm 3,5$ мм, правого – $7 \pm 4,2$ мм. Величина угла переднезаднего отклонения слева $24,5 \pm 11,7^\circ$; справа – $24,0 \pm 10,4^\circ$. У всех пациентов отмечено двустороннее

обызвествление шилоподъязычной связки с наличием одного или двух фрагментов, удлинение и искривление отростка в медиальную сторону.

Таким образом, ШОВК взрослого человека характеризуются индивидуальными особенностями длины, толщины и величины угла его отклонения. Отростки, принадлежащие одному человеку, чаще ассиметричны. Полученные результаты согласуются с литературными данными. Практическому врачу необходимо помнить, что среди пациентов, у которых отмечаются функциональные нарушения некоторых органов головы и шеи, значительную часть составляют пациенты с ШПС.

ИНСУЛИН И С-ПЕПТИД ПРИ СОВМЕСТНОМ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ УЛУЧШАЮТ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНЯХ КРЫС С НЕОНАТАЛЬНОЙ МОДЕЛЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

Деркач К.В., Бондарева В.М., Перминова А.А., Басова Н.Е., Шпаков А.О.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии
наук, Санкт-Петербург
alex_shpakov@list.ru*

С-пептид, продукт сайт-специфичного протеолиза проинсулина, осуществляет регуляцию широкого спектра физиологических и биохимических процессов в организме. Это происходит путем повышения биодоступности инсулина вследствие образования с ним функционально активных гетероолигомерных комплексов или в результате специфичного связывания С-пептида с его рецептором, что ведет к активации 3-фосфоинозитидного и NO-зависимого путей и каскада митогенактивируемых протеинкиназ. В условиях недостаточности продукции инсулина панкреатическими β -клетками при сахарном диабете (СД) 1-го типа и при тяжелых формах СД 2-го типа уровни инсулина и С-пептида в мозге, который является одной из мишеней их действия, снижаются. Это приводит к ослаблению зависимых от инсулина и С-пептида сигнальных каскадов в ЦНС, следствием чего является нарушение центральной регуляции энергетического гомеостаза, периферической инсулиновой чувствительности и гормональной регуляции в гипоталамусе и на периферии, в том числе активности цАМФ-зависимых сигнальных путей. Одним из подходов для компенсации такого дефицита является введение инсулина и С-пептида в ЦНС, для чего в наибольшей степени подходит интраназальный способ их доставки. Нами высказано предположение, что интраназальное введение инсулина (ИВИ) и С-пептида (ИВСП) при СД 2-го типа приведет к нормализации метаболических и гормональных показателей, причем одним из механизмов этого будет восстановление активности аденилатциклазной сигнальной системы (АЦСС).

Целью работы было изучить влияние 9-ти дневного лечения четырехмесячных самцов крыс Wistar с неонатальной моделью СД 2-го типа с помощью ИВСП (10 мкг/крысу/сут) и ИВИ (20 мкг/крысу/сут) при их совместном и раздельном введении на метаболические и гормональные показатели и на активность АЦСС в гипоталамусе, миокарде и эпидидимальном жире. Неонатальную модель вызывали обработкой пятисуточных крысят с

помощью стрептозотоцина (75 мг/кг), что в возрасте двух-трех месяцев приводило к нарушенной толерантности к глюкозе, инсулиновой резистентности, дислипидемии.

Лечение диабетических крыс с помощью ИВИ и ИВСП+ИВИ ослабляло гипергликемию и инсулиновую резистентность, улучшало показатели липидного обмена, снижало индекс атерогенности. В гипоталамусе восстанавливалась регуляция активности аденилатциклазы (АЦ) агонистами МК4-меланокортиновых и D2-дофаминовых рецепторов, ослабленная при СД 2-го типа. В миокарде и эпидидимальном жире отмечали восстановление стимулирующих эффектов агонистов β_1/β_2 - и β_3 -адренорецепторов на активность АЦ, что свидетельствует об улучшении гормональной регуляции сердечно-сосудистой системы и нормализации липолитических процессов в жировой ткани. Совместное применение ИВСП+ИВИ было более эффективным, чем монотерапия ИВИ, что свидетельствует об усилении регуляторных эффектов инсулина в присутствии С-пептида. Обработка диабетических крыс ИВСП была мало эффективной. Полученные данные свидетельствуют о перспективах совместного применения эквимолярных количеств ИВСП и ИВИ для коррекции метаболических и функциональных нарушений при тяжелых формах СД 2-го типа и о вкладе в этот процесс восстановления функциональной активности АЦСС.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 18-015-00144).

ГИПОТАЛАМИЧЕСКАЯ ЛЕПТИНОВАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА И ЕЕ РОЛЬ В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ ОЖИРЕНИЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Деркач К.В., Шпаков А.О.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук, Санкт-Петербург
derkatch_k@list.ru*

Адипокин лептин является полипептидным фактором, который продуцируется адипоцитами жировой ткани и, специфически связываясь с лептиновыми рецепторами (ЛепР), контролирует широкий спектр физиологических и биохимических процессов в организме. Основной мишенью лептина являются чувствительные к нему гипоталамические нейроны в аркуатных ядрах гипоталамуса, где локализованы функционально активные ЛепР и сопряженные с ними эффекторные звенья лептиновой сигнальной системы – фосфатидилинозитол-3-киназа, транскрипционные факторы STAT-семейства, митогенактивируемые протеинкиназы. В аркуатных ядрах гипоталамуса лептин активирует нейроны, экспрессирующие про-опиомеланокортин (ПОМК), и повышает продукцию анорексигенных меланокортиновых пептидов, и, напротив, ингибирует нейроны, экспрессирующие орексигенные факторы – нейропептид Y и агути-подобный пептид, снижая их продукцию. В результате снижается аппетит, повышается интенсивность расхода энергии, нормализуется углеводный и липидный обмен. Снижение транспорта лептина через гематоэнцефалический барьер в условиях лептиновой резистентности, характерной для ожирения и метаболического синдрома, а также ослабление чувствительности гипоталамических нейронов к лептину в результате нейродегенеративных изменений в ЦНС являются первопричинами нарушений пищевого поведения и приводят к развитию или усугублению уже имеющихся метаболических расстройств. Поскольку в последние годы

получены убедительные доказательства того, что лептин участвует в регуляции эндокринной системы, то ослабление лептиновой сигнализации в гипоталамусе связывают с последующими нарушениями функционирования гонадной, тиреоидной и надпочечниковой осей. В гипоталамусе лептиновая система тесно взаимодействует с инсулиновой сигнальной системой, что обусловлено общими молекулярными мишенями действия лептина и инсулина, среди которых ключевую роль играют фосфатидилинозитол-3-киназа и Akt-киназа, основные эффекторные компоненты 3-фосфоинозитидного пути. Более того, негативным регулятором как лептиновой, так и инсулиновой сигнальных систем является фермент протеинфосфотирозинфосфатаза 1В, которая дефосфорилирует активированные лигандами лептиновый и инсулиновый рецепторы и прерывает, тем самым, осуществляемую через них сигнальную трансдукцию. Одним из перспективных подходов для нормализации пищевого поведения и предотвращения ожирения и метаболического синдрома является восстановление активности гипоталамической лептиновой системы и ее функционального взаимодействия с инсулиновой системой. Для этого могут быть применены аналоги лептина с повышенной проницаемостью через ГЭБ, интраназальный способ доставки лептина и селективные ингибиторы протеинфосфотирозинфосфатазы 1В. Нами установлено, что лечение грызунов с моделями ожирения и метаболического синдрома с помощью ингибиторов протеинфосфотирозинфосфатазы 1В и интраназально вводимого аналога лептина приводит к снижению массы тела и жировой ткани, улучшает глюкозный гомеостаз, липидный обмен, чувствительность к инсулину и лептину, что сопровождается нормализацией активности лептиновых сигнальных путей в гипоталамусе животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (№ 16-15-10388).

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ СИМПАТИЧЕСКИХ ГАНГЛИОНАРНЫХ НЕЙРОНОВ

Емануйлов А.И.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

Большинство симпатических ганглионарных нейронов являются норадренергическими. При этом меньшая часть нервных клеток (1 – 25%) не содержит катехоламинов и является холинергической. Небольшая популяция нейронов в симпатических узлах является холинергической. Эти нейроны содержат холинацетилтрансферазу (ХАТ). Помимо ацетилхолина, ХАТ-иммунореактивные нейроны могут содержать вазоинтестинальный (ВИП) и кальцитонин-ген-родственный пептид (КГРП). У млекопитающих основной мишенью симпатических нейронов, содержащих ВИП и КГРП, является надкостница и потовые железы. У кошек и собак, в отличие от приматов и грызунов, холинергические ВИП-содержащие волокна иннервируют артериолы скелетных мышц. В паравертебральных симпатических ганглиях кошки в 99 % нейронов, иннервирующих потовые железы и содержащих КГРП и ВИП, обнаруживается NO синтаза (NOS).

Целью исследования явилось сравнение возрастного развития популяций некахоламинергических симпатических нейронов кошки, содержащих различные нейротрансмиттеры. Исследованию подвергались симпатические узлы кошек разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, и 180-суточные). Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил. Локализация, процентное содержание и

морфометрические характеристики ХАТ, ВИП, КГРП и NOS иммунопозитивных нейронов определялись при помощи иммуногистохимических методов с использованием двойного мечения антителами и последующей флуоресцентной микроскопией. Статистический анализ включал определение средней арифметической, ее стандартной ошибки, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты показали, что у кошек холинергические нейроны, содержащие ХАТ, отсутствуют у новорожденных и появляются лишь с 10 суток жизни. С 10 суток жизни у кошек ХАТ солокализирован с ВИП. Наибольшее количество ВИП-позитивных нейронов определяется в звездчатом узле и небольшое количество – в краниальном шейном и узлах солнечного сплетения. У новорожденных котят в звездчатом узле число ВИП-иммунореактивных нейронов невелико, и этот пептид в этом возрасте определяется главным образом в кластерно расположенных вазодилататорных нейронах. В первые 20 суток жизни доля ВИП-содержащих нейронов возрастает с 0,3 до 9,2% за счет увеличения количества диффузно расположенных клеток. На протяжении первых 10 суток ВИП-иммунопозитивные нейроны становятся также ХАТ-позитивными, а после 20 суток большинство ВИП-иммунореактивных нейронов становятся также NOS-позитивными. В первые 20 дней жизни котят доля ВИП-содержащих нейронов, экспрессирующих КГРП, возрастает с 23 до 44%. В краниальном шейном узле почти все NOS-иммунореактивные нейроны являлись ВИП-позитивными, в звездчатом узле доля NOS/ВИП солокализированных нейронов возрастала с 38 до 63% в первые 20 суток жизни. У новорожденных котят КГРП в симпатических нейронах не выявляется. Процент КГРП-иммунореактивных нейронов возрастает в первые 20 суток жизни.

Таким образом, у новорожденных котят в симпатических узлах большинство некахоламинергических нейронов имеет только один главный нейротрансмиттер – ВИП, или NO. ХАТ и КГРП определяются лишь с 10 суток жизни. Имеются определенные отличия в возрастном развитии нейронов различных симпатических узлов.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННОГО ТРИПТОФАНА НА ЛОКОМОЦИЮ *DROSOPHILA MELANOGASTER* НА МОДЕЛИ ГЕНА *WHITE*

Емелина Ю.А., Костенко В.В.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Казань, Россия
vvkostenko1@gmail.com*

Ген *white* (CG2759) дрозофилы является ключевым звеном, участвующим в пигментации глаз. Совместно с продуктами генов *brown* и *scarlet*, ген *white* транспортирует предшественники пигментов гуанин и триптофан, которые также включены в биосинтез нейропептидов – серотонина, дофамина и октопамина. При этом, некоторые мутантные варианты по гену *white* характеризуются дефицитом триптофана, который включен в кинурениновый метаболизм. Ранее нами было установлено, что мутанты по гену *white* имеют различия в реакции по ряду поведенческих признакам (локомоция, половое поведение и фотоактивность). Нами было показано, что мутанты w^1 уже в раннем имагинальном развитии имеют отклонения в структурах нервной ткани головного мозга. Поэтому, цель данного исследования: оценить влияние эндогенного триптофана на формирование локомоторной активности у имаго дрозофилы, мутантных по гену *white*.

Эксперимент был выполнен с использованием мутантной линии w^1_{C-S} и линии дикого типа $C-S$ (w^+_{C-S}) из коллекции кафедры генетики ИФМиБ КФУ. Мух культивировали на стандартной сахарно-дрожжевой среде (контроль). L-триптофан (β -(β -индолил)- α -аминопропионовая кислота) добавляли в питательную среду в концентрации 18 мМ на личиночной стадии. Локомоцию насекомых оценивали отдельно для самок ($n=50$) и самцов ($n=50$) по вертикальному подъему имаго в пробирке ($d=20$ мм) на расстояние 10 см в течение 10 с, высчитывая затем индекс локомоции по проценту особей, достигших отметку к общему числу тестируемых объектов. Влияние эндогенного триптофана на формирование локомоции оценивали для двух возрастных групп: 3-х и 20-ти дневных имаго. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения GrafPad Prism 6.

Полученные нами данные показывают, что при добавлении L-триптофана происходит угнетение локомоции у 3-х дневных мутантов w^1_{C-S} в 1,3 раза ($\eta = 46,6\%$; $F = 12,26$; $p = 0,003$) по сравнению с контрольной группой, в то время как для имаго с нормальной пигментацией глаз w^+_{C-S} не было выявлено статистически значимых различий. Для мутантов w^1_{C-S} 20-ти дневного возраста, которые развивались на среде с L-триптофаном, нами были отмечены более высокие значения индекса локомоции по сравнению с контрольной группой этого же возраста (для самок в 6,3 раза, а для самцов в 1,7 раза), а сила влияния исследуемого фактора составила 59% ($F = 14,43$; $p = 0,003$). Для нормально пигментированных имаго w^+_{C-S} с возрастом характерным является снижение индекса локомоции, но добавление L-триптофана приводит к устойчивому сохранению поведения ($\eta = 45,2\%$; $F = 8,25$; $p = 0,02$).

Таким образом, проведенное нами исследование позволяет заключить, что введение эндогенного триптофана на личиночной стадии развития мутантам по гену *white* имеет выраженное положительное действие на проявление локомоции у имаго на более поздних этапах жизни, что вероятно связано с особенностями метаболизма триптофана.

ВЛИЯНИЕ ГОМОЦИСТЕИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В GH3 КЛЕТКАХ ГИПОФИЗА КРЫСЫ

*Ермакова Е.В., Гайфуллина А.Ш., Ситдикова Г.Ф.
Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

Введение. Эндогенные тиолы – группа соединений, которые содержат SH-группы и обеспечивают окислительно-восстановительный баланс клеток. Изменения их концентраций приводят к различным нарушениям в системах организма. Одной из причин патологий нервной системы является гипергомоцистеинемия – повышение уровня гомоцистеина в крови.

Цель исследования. Выявление влияния гомоцистеина и его производных - гомоцистина и гомоцистеин тиолактона на окислительный стресс с использованием флуоресцентного красителя DCF в GH3 клетках гипофиза крысы, секретирующих гормон роста и пролактин.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на культуре GH3 клеток гипофиза крысы. Анализ активных форм кислорода производили с использованием флуоресцентного красителя DCF, в котором клетки инкубировались в течение 20 мин. При помощи микроскопа AxioScope A1 проводили флуоресцентную визуализацию окрашенных клеток. Флуоресцентные картины регистрировались с помощью камеры AxioCam MRm. Для анализа результатов использовалось программное обеспечение ImageJ и ORIGINPRO 8.5.

Результаты. В контроле наблюдалось свечение красителя, которое достигало $380,2 \pm 22,6$ у.е. ($n=125$), что связано с окислением красителя DCF эндогенной перекисью водорода (H_2O_2). Для анализа влияния гомоцистеина (300 мкМ) и его производных – гомоцистина (300 мкМ) и гомоцистеин тиолактона (300 мкМ) на процессы окислительного стресса клетки инкубировали в среде, содержащей вещество в течение 20 мин или 24 часов (острая или хроническая инкубация, соответственно). Инкубация клеток в растворе с гомоцистеином приводила к увеличению интенсивности свечения до 494.5 ± 33.2 ($n=52$, $p < 0,05$) при острой инкубации и до 775.5 ± 53.3 ($n=42$, $p < 0,05$) при хронической инкубации, что в обоих случаях достоверно выше, чем в контрольных условиях. Инкубация клеток в растворе с метаболитами гомоцистеина – гомоцистином и гомоцистеин тиолактоном также приводила к повышению интенсивности свечения красителя. Значение флуоресценции повышалось до 553.0 ± 28.1 ($n=81$, $p < 0,05$) при острой и до 763.8 ± 21.7 ($n=160$, $p < 0,05$) при хронической инкубации в растворе с гомоцистином; а при инкубации клеток в растворе с гомоцистеин-тиолактоном до 470.9 ± 26.5 ($n=75$, $p < 0,05$) при острой и до 830.2 ± 33.6 ($n=159$, $p < 0,05$) при хронической инкубации. Все перечисленные значения оказались достоверно выше, чем в контрольных условиях.

Выводы. Не только гомоцистеин, но и его метаболиты – гомоцистин и гомоцистеин тиолактон вызывают усиление продукции активных форм кислорода как при острой (20 мин), так и хронической инкубации (24 ч), что приводит к развитию окислительного стресса. В ГНЗ клетках это может привести к уменьшению секреции гормона роста, и как результат – к нарушениям роста и развития в условиях пренатальной гипергомоцистеинемии.

Работа поддержана грантом РФФ № 14-15-00618

СВЯЗЬ СОДЕРЖАНИЯ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ВОЛОСАХ С ХАРАКТЕРИСТИКАМИ КАЧЕСТВА СНА У СТУДЕНТОВ РАЗНОГО ПОЛА

Залата О.А., Евстафьева Е.В., Богданова А.М., Жукова А.В., Кашка Л.Р.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Россия

Прогрессивно ухудшающееся состояние окружающей среды делает актуальными исследования, направленные на изучение особенностей элементного баланса организма различных категорий населения и оценку влияния эссенциальных и/или токсичных химических элементов организма на функциональное состояние центральной нервной системы. Одним из важных для нормальной жизнедеятельности человека психофизиологических процессов является сон, нарушения которого встречаются в последнее время часто и у молодых людей.

С соблюдением биоэтических принципов обследовали группу практически здоровых студентов-медиков 18 – 20 лет обоего пола (девушки $n=40$, юноши $n=23$), жителей Республики Крым (РК). Применили следующие методики: для оценки качества сна – Питтсбургский тест индекса качества сна, дневной сонливости – шкалу Эпворта, хронотипа – тест Хорна-Остберга. Для определения содержания 7 эссенциальных элементов (Na, Ca, Cr, Fe, Co, Zn, Ba) в волосах использовали инструментальный нейтронно-активационный анализ с облучением тепловыми нейтронами в лаборатории ядерно-геохимических методов исследования кафедры геоэкологии и геохимии Томского политехнического университета. Измерения производились на гамма-спектрометре с германий-литиевым детектором ИРТ-Т. Полученные данные

анализировали методами непараметрической статистики (медианы, 25/75 перцентили; критерий Манна-Уитни; коэффициент Спирмена), программа Statistica 8.0.

Установили, что медианы основных временных показателей качества сна в основном соответствовали границам рекомендуемых значений для молодых людей 19 – 20 лет. При этом у студентов как мужского, так и женского пола были проблемы с эффективностью сна, а у части респондентов (р75) дневная сонливость выходила за пределы нормальных значений (8,0; 6,0/11,0).

Результаты биомониторингового исследования выявили отличия в содержании Na, Ca, Cr и Co в волосах студентов разного пола: у юношей значения Na, Cr и Co были достоверно выше ($p=0,01$), а кальция – ниже ($p=0,006$), чем у девушек. Сравнение содержания эссенциальных элементов у обследованных студентов разного пола с данными, полученными у их ровесников, жителей Томской области, показало, что только значения для Na в волосах юношей, – жителей РК были ниже, концентрации остальных элементов были сопоставимы. Установили ряд зависимостей характеристик сна и хронотипа студентов всей группы от содержания 5-ти из 7-ми исследуемых элементов: Co, Fe, Cr, Na и Ba. Корреляционные связи (10) были слабыми ($0,26 \leq r \leq 0,43$), но достоверными ($0,01 \leq p \leq 0,000$), наибольшее их количество было установлено с кобальтом (4). Результаты корреляционного анализа в группах студентов разного пола обнаружили, что наиболее «чувствительными» к содержанию эссенциальных элементов были характеристики сна и хронотипа девушек (9 взаимосвязей), а не юношей (6). В отличие от лиц мужского пола, у девушек Na, Cr и Ba обнаружили взаимосвязь с хронотипом личности ($0,31 \leq r \leq 0,36$; $0,02 \leq p \leq 0,05$), а количество элементов, обнаруживших корреляции было больше: Na, Co, Cr, Ba, Fe, Zn. В группе юношей обнаружили связь характеристик сна только с Ca, Na, Co и Ba.

Таким образом, в выборочной группе крымских студентов-медиков выявлены половые различия как в содержании эссенциальных элементов, так и в их взаимосвязи с характеристиками сна и хронотипа.

НЕЙРОПЕПТИД Y ИЗМЕНЯЕТ ФОРМУ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ РАБОЧИХ КАРДИОМИОЦИТОВ КРЫС

*Зверев А.А., Искаков Н.Г., Аникина Т.А., Зверева Е.Н., Зефиоров Т.Л.
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

Нейропептид Y, представляет собой остаток 36-пептида, который образуется путем отщепления от большого предшественника, preproNPY. На периферии NPY совместно располагается и выбрасывается при стимуляции с норадреналина в симпатических нервных волокнах. В сердце, мРНК нейропептид Y выражается в телах внутрисердечных нейронов и эндотелиальных клетках. Его действия опосредованы G-белком рецепторов, обозначаемых как NPY₁ – NPY₆. Действия NPY в сердце обширны, и эффекты NPY вовлечены практически все типы клеток сердца. У крыс, кроликов и морских свинок экспрессия NPY больше в левом предсердии, чем в правом. В правом желудочке NPY встречается больше, чем в левом. NPY больше в предсердиях, чем в желудочках. У человека количество NPY одинаково в обоих предсердиях. Целью данного исследования явилось изучение влияния нейропептида Y на электрическую активность препарата правого предсердия.

Электрическую активность кардиомиоцитов в эксперименте изучали на препарате правого предсердия с сохраненным синусно-предсердным узлом (СПУ) и спонтанной активностью препарата. Также электрическую активность определяли на правом предсердии с навязанным ритмом, т.е. без синусно-предсердного узла. Определение электрической активности кардиомиоцитов на NPY проводили в трех последовательно возрастающих концентрациях. Регистрацию ПД проводили в соответствии с классической методикой внутриклеточных отведений. Регистрировали следующие показатели: мембранный потенциал (МП), амплитуду потенциала действия (ПД) и время реполяризации. Достоверность различий рассчитывали по парному t критерию Стьюдента.

Исследовали влияние неселективного агониста нейропептида Y на параметры ПД в концентрациях 10^{-8} – 10^{-6} М. На препарате, как с сохраненным СПУ, так и без него нейропептид Y в концентрации 10^{-8} М не вызывал достоверных изменений параметров МП и ПД. Аппликация NPY в концентрации 10^{-7} М значительно изменяла МП и ПД рабочих кардиомиоцитов правого предсердия с сохраненным синусно-предсердным узлом и не изменяла параметры МП и ПД кардиомиоцитов с навязанным ритмом. Увеличение концентрации агониста (10^{-6} М) на препарате с СПУ приводило к увеличению амплитуды ПД, длительности ПД, уменьшению МП и частоты генерации ПД. На препарате без СПУ нейропептид Y вызывал уменьшение длительности ПД и не изменял остальные параметры электрической активности.

Таким образом, активация NPY-рецепторов кардиомиоцитов правого предсердия изменяет МП и амплитудно-временные параметры ПД.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00567.

БЛОКАТОР V1BR 3226 ИЗМЕНЯЕТ ПАРАМЕТРЫ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ РАБОЧИХ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРАВОГО ПРЕДСЕРДИЯ КРЫС

*Искаков Н.Г., Зверев А.А., Аникина Т.А., Зефиоров Т.Л.
Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

Нейропептид Y (Neuropeptide Y) выделен в 1982 – 84 гг. как представитель семейства панкреатических пептидов. Нейропептид Y (NPY) представляет собой пептид с 36 аминокислотами, который проявляет действия на сердечно-сосудистую систему и центральную нервную систему. NPY может регулировать кровяное давление, психомоторную функцию, тревогу, прием пищи и эндокринные выделения. V1BR 3226 – это первый мощный и селективный непептидный антагонист, который был разработан путем имитации карбоксил-концевой структуры NPY. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния селективного антагониста NPY₁ рецепторов V1BR 3226 на электрическую активность препарата правого предсердия.

Электрическую активность кардиомиоцитов изучали с использованием микроэлектродного отведения на препарате правого предсердия крыс с сохраненным синусно-предсердным узлом (СПУ) и спонтанной активностью и без СПУ с навязанным ритмом (300 стимулов в минуту). Определение электрической активности кардиомиоцитов на аппликацию V1BR 3226 проводили в концентрации 1.1 мМ. Мембранный потенциал (МП) и амплитуду потенциала действия (ПД) регистрировали с использованием стеклянных микроэлектродов с

сопротивлением кончика сопротивление 30-80 МΩ. Полученные результаты статистически обрабатывали в программе "PowerGraph Professional 3.3" ("Disoft"). Достоверность рассчитывали по парному t критерию Стьюдента.

По данным литературы ВВР 3226 в концентрации 1.1 мМ полностью блокирует NPY₁-рецепторы. На препарате с СПУ и без СПУ блокатор увеличивает длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов на уровне 50% и 90% реполяризации. Мембранный потенциал и амплитуда ПД достоверно не изменяются.

Таким образом, блокада NPY₁-рецепторов приводит к затягиванию ПД, что доказывает участие данного типа рецепторов в формировании электрической активности рабочих кардиомиоцитов правого предсердия.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00567.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙРОНОВ КАУДАЛЬНОГО ОТДЕЛА ГИПОТАЛАМУСА ПРИ СТАРЕНИИ, БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И СОСУДИСТОЙ ДЕМЕНЦИИ

Ишунина Т.А.

Курский государственный медицинский университет, Россия, Курск

Основные структуры каудального отдела гипоталамуса – крупноклеточное туберомамиллярное (ТМЯ) и мелкоклеточное медиальное мамиллярное (ММЯ) ядра участвуют в регуляции памяти, обучения, эмоций. ТМЯ – источник гистаминэргических проекций для различных структур головного мозга, включая кору больших полушарий. ММЯ – место окончания свода, посредством которого это ядро связано с гиппокампом и является составной частью мамилло-таламического тракта, необходимого для формирования памяти на недавние события. Несмотря на анатомическую близость, эти ядра в различной степени поражаются при болезни Альцгеймера. В ТМЯ обнаруживают многочисленные нейрофибриллярные клубки и амилоидные бляшки, тогда как в ММЯ отложения амилоида Аβ минимальны. По данным собственных исследований, в обоих ядрах при двух наиболее частых формах слабоумия, болезни Альцгеймера (БоАл) и сосудистой деменции (СД), наблюдается значительное повышение плотности глиальных клеток. В ММЯ при БоАл помимо этого увеличивается и плотность расположения нейронов, что свидетельствует о сморщивании этой структуры и подтверждено данными МРТ.

При старении в ТМЯ и ММЯ отмечена активизация нейронов. Площади ядер и перикарионов нейронов увеличиваются с возрастом и достигают максимальных значений в группе лиц пожилого возраста (60 – 74 лет). При разделении по гендерному признаку возрастная активизация нейронов ММЯ, проявляющаяся в том числе увеличением размеров аппарата Гольджи (АГ), в более значительной степени выражена у женщин и ассоциируется с изменениями экспрессии эстрогеновых рецепторов. В ТМЯ увеличение перикарионов нейронов с возрастом более заметно у мужчин. Гендерные различия отмечены и при деменциях. Так, при СД размеры АГ и перикарионов нейронов ТМЯ достоверно ниже у пациентов мужского пола, а при БоАл интенсивность иммуоцитохимического окрашивания АГ в более значительной степени снижается у пациенток женского пола. Указанные отличия соответствуют эпидемиологическим данным о более высокой частоте СД у мужчин, а БоАл –

у женщин. Морфометрические показатели нейронов, свидетельствующие об интенсивности их метаболической активности, в ТМЯ при обеих формах деменции снижены. В ММЯ наблюдается обратная картина. Выраженность нейропатологических изменений здесь намного ниже, чем в ТМЯ или коре больших полушарий. Площади ядер нейронов увеличены, что свидетельствует о компенсаторном механизме увеличения метаболической активности нейронов при незначительном уровне содержания β амилоида и на ранних стадиях нейропатологических проявлений цитоскелетных нарушений согласно стадиям Braak. Данные литературы подтверждают эту гипотезу. По данным L. Dubelaar и соавт. (2004), в базальном ядре Мейнерта (БЯМ) на более ранних стадиях нейропатологических изменений (стадии III – IV по Braak) наблюдается активизация нейронов, проявляющаяся увеличением размеров их аппарата Гольджи. На более поздних стадиях (V – VI по Braak), соответствующих клиническим проявлениям БоАл, активизация сменяется резким снижением метаболической активности нейронов, свидетельствующим об истощении компенсаторных механизмов. Таким образом, возрастную активизацию нейронов при нормальном старении следует рассматривать как включение компенсаторных механизмов, усиливающихся на ранних стадиях нейропатологических изменений и на начальных этапах развития деменции. В ММЯ при БоАл нейропатологические изменения не прогрессируют, и метаболическая активность нейронов не снижается. Не исключено, что увеличение метаболической активности нейронов при старении и деменциях в ряде структур головного мозга носит защитный характер. Подробное изучение этого феномена может помочь в разработке превентивных методов лечения деменций.

НОВЫЙ РАСТИТЕЛЬНЫЙ КРАСИТЕЛЬ ДЛЯ НЕРВНОЙ ТКАНИ

Ишунина Т.А.

Курский государственный медицинский университет, Россия, Курск

Для окрашивания нервной ткани чаще всего используют импортные синтетические красители крезоловый фиолетовый и тионин. По классификации они принадлежат к группе основных, или ядерных красителей, что связано с их избирательным сродством к структурам кислой природы (ДНК и РНК содержащие ядра, ядрышки и др.). К их недостаткам относятся высокая цена, ограниченная доступность и технические погрешности, связанные с наличием фона при интенсивном окрашивании или, напротив, недостаточно чёткой идентификацией структур. К гистологическим красителям растительного происхождения этой группы относят гематоксилин, получаемый из коры кампешевого дерева, произрастающего в Центральной Америке. Производство гематоксилина сосредоточено за рубежом. Процесс окраски не лишён недостатков, связанных, прежде всего, с необходимостью созревания красителя, которое в естественных условиях может занять до 3 – 4-х недель. Учитывая огромное изобилие растений Центрального района России, известных своими красильными свойствами, целью собственных исследований стала разработка простых и экономичных методов гистологического окрашивания на основе широко распространённого и дешёвого растительного сырья Курской области с использованием нетоксичных и доступных ингредиентов. В результате многочисленных экспериментов была выделена группа основных красителей на основе спиртовых экстрактов плодов чёрной смородины, черноплодной рябины, бузины чёрной и винограда сорта «Изабелла», которые избирательно окрашивают ядра клеток. Эти ягоды обладают морфологическим сходством. Общим в химическом составе

является высокое содержание красящих пигментов – антоцианов. Наиболее перспективным в экономическом плане является использование с целью получения красителя плодов черноплодной рябины. Они достаточно крупные, и их легко собирать. Из 1 кг ягод получается 1,4 литра красителя. Свежие или размороженные плоды черноплодной рябины разминают, сливают образовавшийся сок (необязательный этап) и заливают 90% этиловым спиртом в соотношении 1,25:1 – 1,3:1. Настаивание производится в защищённом от света месте в тёмной посуде при комнатной температуре в течение 3 – 4-х дней, затем настойку отжимают через марлю и получают густой тёмно-красный непрозрачный раствор, который можно хранить не менее 1 года в тёмной стеклянной посуде в холодильнике при температуре 4 – 6⁰С. К 40 мл фильтрата добавляют 2 – 2,5 грамма медного купороса, размешивают, после чего он сразу же готов к употреблению в течение месяца. Полученный краситель избирательно окрашивает ядра и базофильные структуры клеток в фиолетовый (различных оттенков) цвет и особенно хорошо подходит для окрашивания нервной ткани и изучения цитоархитектоники головного мозга. В отличие от указанных выше синтетических аналогов не даёт фона, позволяет чётко идентифицировать границы ядер и перикарионов нейронов, что немаловажно для морфометрических исследований. При экспозиции в ксилоле краситель не растворяется. Более того, интенсивность окраски при хранении препаратов не изменяется, что говорит о хорошей стойкости красителя. Механизм избирательного окрашивания ядер новым красителем объясняется наличием в химической структуре антоцианов катиона – оксониевого кислорода, имеющего неподелённую пару электронов. Предполагается, что каждый мононуклеотид ДНК и РНК связывается через фосфатную группу с одним катионом красителя, который, в свою очередь, образует донорно-акцепторную связь с атомом металла-комплексообразователя (в данном случае это медь в составе медного купороса), определяющим цвет окрашиваемых структур. Интересно, что химическая формула антоцианов имеет много общего со структурой синтетических красителей ядерного типа. Однако следует отметить, что для приготовления ядерных красителей могут использоваться растительные ресурсы с высоким содержанием более полярных моногликозидных форм антоцианов, которые как раз преобладают в плодах черноплодной рябины. При повышенной концентрации дигликозидных форм антоцианов ядерной окраски не наблюдается, или она сопряжена с цитоплазматическим окрашиванием.

ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫЕ И СУПРАЭПЕНДИМНЫЕ КЛЕТКИ БОКОВЫХ ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ ПРИ ТРАНЗИТОРНОЙ ОККЛЮЗИИ СРЕДНЕЙ МОЗГОВОЙ АРТЕРИИ

Кирик О.В.¹, Колпакова М.Э.²

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

² – Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, Россия

Головной мозг млекопитающих и человека имеет сложную систему ликвороносных пространств центральной частью которой является желудочковая система. Внутрижелудочковые и супраэпендимные клетки представляют собой гетерогенную популяцию, состоящую из нескольких клеточных типов: макрофаги (клетки Кломера),

нейроны, микроглиоциты, глиальные клетки. Развитие острой фокальной ишемии приводит к развитию патологических процессов, которые затрагивают не только все основные клеточные популяции нервной ткани: нейроны, астроциты, микроглиоциты, эндотелиоциты, но также влияют на популяцию клеток в полости желудочков.

Целью настоящего исследования была характеристика популяции данных клеток через 48 ч после 30 минутной фокальной ишемии, которая должна способствовать активации микроглиоцитов и макрофагов.

Эксперименты выполнены на половозрелых крысах-самцах линии SHR (n=8). Содержание животных и все экспериментальные манипуляции осуществляли с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ №755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Индукцию ишемии проводили при помощи эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии под общей анестезией (тиопентал-натрий, 60мг/кг). Продолжительность нарушения кровообращения в бассейне левой средней мозговой артерии в каждом случае составляла 30 мин, а время реперфузии – 48 ч. Контролем служило контралатеральное (неишемизированное) полушарие головного мозга оперированных животных. Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, обезжировали и заливали в парафин обычным способом. Морфологическому исследованию подвергали фронтальные срезы конечного мозга. Для иммуноцитохимического выявления виментина были использованы мышиные моноклональные антитела в разведении (1:100) (клон V9; Agilent, США). Микроглиоциты выявляли при помощи реакции на белок Iba-1 (кроличьи поликлональные антитела; Biocare medical, США) в разведении (1:600). Для проявления иммуноцитохимических реакций использовали набор MACH2 Universal HRP Polymer Kit for mouse or rabbit (Biocare medical, США). Для визуализации продукта реакции использовали хромоген 3`3-диаминобензидин из наборов DAB+ (Agilent, США)

После проведения эндоваскулярной окклюзии средней мозговой артерии не происходит нарушения ликворо-энцефалического барьера. У экспериментальных животных после проведения иммуногистохимической реакции на виментин в боковых желудочках интенсивная иммунопозитивная (ИП) реакция регистрируется в клетках, расположенных на ворсинках сосудистого сплетения, в свободно флотирующих клетках и клетках, расположенных на поверхности эпендимы (супраэпендимных клетках). В прилежащей к боковым желудочкам нервной ткани виментин-ИП являются клетки эпендимы, клетки эндотелия и отдельные клетки в просвете сосудов. Макрофаги (Iba-1-ИП клетки) расположенные на ворсинках сосудистого сплетения в ишемизированном левом полушарии имеют амёбовидную форму, что свидетельствует об их активации. Кроме того, Iba-1-ИП клетки присутствуют в ликворе и на поверхности эпендимы.

Таким образом, после 30 минутной фокальной ишемии в полости левого бокового желудочка появляются множественные виментин-ИП клетки, которые имеют структурные характеристики и локализацию сходную с макрофагами, что свидетельствует об усилении контроля над ликворо-энцефалическим барьером и возможного увеличения популяции микроглиоцитов нервной ткани мигрирующими через эпендиму макрофагами.

ЭМОЦИОНАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ЛЮДЕЙ КАК ФАКТОР, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ УСПЕШНОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ БАЗОВЫХ ЭНДОХИРУРГИЧЕСКИХ НАВЫКОВ

Клименко А.В.¹, Яковенко И.Ю.¹, Перцов С.С.^{1,2}

¹ – ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, Россия, Москва;

² – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Россия, Москва

Эндоскопические методики оперативного лечения за последние годы твердо вошли в современную медицинскую практику и являются золотым стандартом при оказании хирургической помощи. Качественное выполнение оперативного вмешательства напрямую зависит от уровня подготовки хирурга. Наравне с базовыми теоретическими знаниями и практической подготовкой, большое значение приобретает оценка психоэмоциональной профпригодности. Целью нашей работы явилось изучение зависимости формирования базовых эндохирургических навыков от уровня эмоциональной устойчивости людей.

Исследования проведены на 78 студентах мужского пола, обучающихся в Московском государственном медико-стоматологическом университете им. А.И. Евдокимова. Лица, участвующие в эксперименте, были разделены на две группы в зависимости от исходного уровня эмоциональной устойчивости (на основании теста Айзенка). Испытуемым предлагалось выполнить ряд стандартизированных упражнений по системе БЭСТА с использованием коробочного тренажера T5 Large RM (3-D Med, США) на протяжении 10 регулярных тренировок по 30 минут каждая. Регистрацию электромиограмм (ЭМГ) во время тренировок производили поверхностным методом на аппарате BIOPAC MP 36 (BIOPAC® Systems, Inc., США). До и после тренировок определяли вариабельность сердечного ритма. При выполнении упражнений ежедневно фиксировали количество допущенных ошибок и время выполнения манипуляций.

Установлено, что эмоционально устойчивые индивиды ($n=19$) изначально хуже справлялись с поставленными задачами, совершая большее количество ошибок и работая медленнее, чем эмоционально неустойчивые ($n=59$). Однако к десятому дню тренировок они становились лидерами как по скорости выполнения поставленных задач, так и по объему безошибочно выполненных заданий. Эмоционально неустойчивые испытуемые отставали в общей прогрессии навыка: на 22,27% – по «времени», на 37,6% – по «ошибкам». Суммарная разница в прогрессии развития эндохирургических паттернов составила 66% в пользу тренирующихся эмоционально устойчивых студентов.

Средняя суммарная площадь ЭМГ для обеих рук за все время наблюдений у испытуемых 2-х выделенных групп практически не отличалась (<2%). Разница площади ЭМГ между эмоционально устойчивыми и эмоционально неустойчивыми студентами изначально составляла 15,78% (96,05 мВ² и 82,96 мВ² соответственно), а к окончанию исследования – 12,21% (43,13 мВ² и 38,43 мВ² соответственно). Межгрупповое отличие нарастания индекса напряжения регуляторных систем (до и после тренировок) составило 2,37 раза: 5,51% для эмоционально устойчивых и 13,04% для эмоционально неустойчивых испытуемых.

Полученные данные указывают на то, что успешность практической эндохирургической подготовки у эмоционально устойчивых людей выше, чем у эмоционально неустойчивых испытуемых. Достижение лучших абсолютных показателей

результативности тренировок у эмоционально устойчивых индивидуумов – высокой скорости выполнения задач, малого количества ошибок и т.д. – обеспечивается более низкой физиологической ценой. Таким образом, эмоциональная устойчивость человека, во многом зависящая от индивидуально-типологических особенностей высшей нервной деятельности, является одним из факторов успешности формирования базовых эндохирургических навыков. Определение уровня эмоциональной устойчивости может быть рекомендована для включения в комплекс мероприятий по оценке профпригодности при подготовке врачей-эндохирургов.

ВЛИЯНИЕ МИКРОЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ЛАТЕРАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ НА РЕАЛИЗАЦИЮ БАРОРЕФЛЕКТОРНОЙ РЕАКЦИИ

Кокурина Т.Н.¹, Рыбакова Г.И.¹, Александров В.Г.^{1,2}

¹ – ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

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

К настоящему времени установлено, что префронтальная кора непосредственно участвует в регуляции функций висцеральных систем. В частности, в процесс автономного контроля вовлечена латеральная область префронтальной коры (инсулярная кора), в которой находится представительство сердечно-сосудистой и дыхательной систем. Предполагается, что латеральная префронтальная кора может модулировать активность рефлекторных дуг, осуществляющих контроль кардиореспираторной функции. Основная цель данной работы заключалась в изучении влияния электрического раздражения островковой коры на реализацию барорефлекторной реакции.

Исследование было проведено на самцах крыс линии Wistar весом 250 – 300 г (анестетик уретан, в/б, 1400 мг/кг). При помощи устройства сбора данных PowerLab 8 и программного пакета LabChart 7 (ADInstruments, Австралия) регистрировались системное артериальное давление (АД) и пневмотахограмма (ПТГ); вычислялось среднее артериальное давление (АД_{ср}) и частота сердечных сокращений (ЧСС), дыхательный объём (ДО) и частота дыхания (ЧД), а также минутный объём дыхания (МОД). Состояние респираторной системы оценивалось по изменениям пневмотахограммы. Тестирование барорефлекса осуществлялось путем введения двух доз α -адреномиметика фенилэфрина (в/в), вызывающего сокращение гладких мышц артериол, повышение АД и рефлекторное понижение ЧСС. Расчет угла наклона прямой, аппроксимирующей зависимость между величиной подъёма АД_{ср} и величиной снижения ЧСС, позволял оценивать изменения барорефлекторной чувствительности. При подготовке к электрической стимуляции раздражающий монополярный микроэлектрод сопротивлением 100 кОм погружался в область левой островкой коры крысы при помощи стереотаксического аппарата. Индифферентный электрод при этом погружался в мышцы шеи. В точку с координатами 1 мм роstralнее *bregma*; 5,5 мм латеральнее средней линии и на глубине 4,5 – 5 мм от поверхности мозга подавали серии прямоугольных импульсов тока отрицательной полярности. Длительность серий была равна 10 секундам, длительность отдельных импульсов 0,5 – 1,0 мс, частота 50 имп/с, амплитуда 50 – 200 мкА.

Как оказалось, электрическое раздражение приводило к снижению АД_{ср} и ЧСС, а также к уменьшению ДО и МОД при неизменном уровне ЧД. Угол наклона аппроксимирующей прямой после действия микроэлектростимуляции уменьшился, что

указывает на ослабление барорефлекторной чувствительности. Кроме того, при одновременном электрическом раздражении и введении ФЭ выявлена зависимость в виде возрастания прессорного эффекта со стороны кровеносной системы. Вероятно, что этот эффект был следствием ослабления симпатического драйва к кровеносным сосудам.

Таким образом, было установлено, что латеральная префронтальная кора крысы может оказывать модулирующее влияние на реализацию барорефлекторной реакции.

Работа проведена на животных из ЦКП Биокolleкция ИФ РАН, поддержанной Программой ФАНО России по сохранению и развитию биоресурсных коллекций.

Работа подготовлена при поддержке программы президиума РАН № 43 «Фундаментальные основы технологии физиологических адаптаций».

УВЕЛИЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА GFAP-СОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК-САТЕЛЛИТОВ В СПИНОМОЗГОВОМ ГАНГЛИИ КРЫСЫ ПРИ СТАРЕНИИ

Колос Е.А.

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

Клетки-сателлиты (КС) – глиальные элементы спинномозгового ганглия, выполняющие трофическую, протекторную и регуляторную функции и участвующие в процессах регуляции гомеостаза и апоптоза. Показателем их активации при экспериментальных повреждениях является изменение экспрессии белка промежуточных филаментов – глиального фибриллярного кислого белка (GFAP). Цель настоящей работы состояла в изучении клеток-сателлитов спинномозговых ганглиев (СМГ), содержащих GFAP, у животных разного возраста. Работа выполнена на крысах Вистар в возрасте 4 мес (n=4) и 18 – 19 мес (n=4), у которых выделяли СМГ шейного отдела спинного мозга на уровне 3 – 5 сегмента и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида (Коржевский и др., 2012). На парафиновых срезах проводили иммуногистохимическую реакцию на GFAP, используя моноклональные мышинные антитела (клон SPM507, Spring Bioscience, США).

Показано, что в СМГ четырехмесячных крыс GFAP-иммунопозитивные (GFAP⁺) КС присутствуют лишь вокруг единичных нейронов, в то время, как у стареющих животных (в возрасте 18 – 19 мес) большинство нейронов ганглия окружены активированными сателлитами. Они располагаются вблизи перикарионов нервных клеток, нередко образуя многослойную оболочку. Количественный анализ показал, что число нейронов, окруженных GFAP⁺ клетками-сателлитами, с возрастом увеличивался более чем в 2,5 раза.

Предположительно изменение активности синтеза GFAP в КС связано с глутамин-глутаматным взаимодействием между нейронами и глиальными клетками. Так, по литературным данным, увеличение внеклеточного содержания глутамата вызывает в глиальных клетках увеличение синтеза GFAP, необходимого для функционирования белков-транспортёров глутамата и играющего важную роль в процессе прикрепления этих транспортеров к плазматической мембране глиоцитов, что, в конечном итоге, приводит к усилению транспорта глутамата из внеклеточного пространства. Известно, что КС играют важную роль в регуляции глутаматергической передачи в СМГ, так как основная часть обратного захвата глутамата происходит через их мембранные транспортеры.

В процессе старения в СМГ крысы происходит увеличение числа и плотности щелевых контактов, происходят процессы демиелинизации и дегенерации аксонов, развивается

аксональная дистрофия. Также при старении отмечается уменьшение количества нейронов в СМГ и их атрофия. Эти явления могут сопровождаться метаболическими изменениями в нервных клетках. Вероятно, при старении, так же как при повреждении, возрастает экспрессия глутамата нейронами СМГ, что приводит к активации КС и увеличению синтеза ими GFAP.

Таким образом, в настоящей работе установлено, что число нейронов, окруженных активированными (GFAP-иммунопозитивными) клетками-сателлитами с возрастом значительно возрастает, что может быть связано с изменениями глутамин-глутаматного обмена в спинномозговом ганглии при старении.

НЕЙРОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТВЕТОВ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА МЕНИГЕАЛЬНЫХ ОБОЛОЧЕК МЫШИ НА ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МЕДИАТОРЫ МИГРЕНИ АЦЕТИЛХОЛИН, СЕРОТОНИН И АТФ

Королёва К.С.¹, Гафуров О.Ш.¹, Ситдикова Г.Ф.¹, Цейтлин В.² и Гиниатуллин Р.А.¹

¹ – Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

² – Институт биоорганической химии. им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

По данным Migraine Foundation мигрень поражает до одного миллиарда человек во всем мире, но по-прежнему остается недостаточно изученным неврологическим расстройством и, во многих случаях, плохо подвергается лечению. Предполагается, что ноцицептивные сигналы, приводящие к головной боли при мигрени, генерируются в окончаниях тройничного нерва в менигеальных оболочках. Однако нейрохимические механизмы формирования болевого сигнала в менигеальных оболочках недостаточно изучены.

В данной работе мы использовали уникальный метод регистрации ноцицептивных спайков от нервных терминалей тройничного нерва в мозговых оболочках мыши в условиях быстрой повторной подачи предполагаемых агонистов ацетилхолиновых, серотониновых и АТФ рецепторов. Нейрохимическое профилирование волокон было осуществлено методом кластерного анализа. Большинство нервных волокон ответили на все три агониста, однако преобладающим был ответ на АТФ и серотонин. Причем ответ на серотонин был наиболее продолжительным, несмотря на отмывку агониста. Часть волокон отвечала только на ацетилхолин. Волокна сильно различались по кинетике первого ответа и скорости восстановления ответа после отмывки.

В докладе будет представлена детальная нейрохимическая характеристика ответов разных нервных волокон тройничного нерва на предполагаемые медиаторы мигрени.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-00-00053 КОМФИ и за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров

РОЛЬ P2X3 РЕЦЕПТОРОВ В ЭФФЕКТАХ СЕРОВОДОРОДА В ТРОЙНИЧНОМ НЕРВЕ КРЫСЫ.

Королёва К.С., Мустафина А.Н., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Введение. Сероводород (H_2S) – газообразная молекула, эндогенно синтезирующаяся в организме и участвующая в широком спектре физиологических процессов, в том числе и ноцицепции. В качестве одной из моделей для изучения механизмов ноцицепции выступает тригемино-вазкулярная система. Она представлена отростками тройничного нерва, иннервирующими сосуды твердой оболочки мозга и принимающим непосредственное участие в патогенезе первичных головных болей, таких как мигрень. Мигрень с ее сложным патогенезом, включающим изменения со стороны нервной, иммунной и сердечно-сосудистой систем, представляет собой одну из актуальнейших проблем современной медицины. Однако механизмы патогенеза мигрени остаются не до конца изученными. Предыдущие исследования показали, что сероводород вызывает активацию тригеминального нерва за счет активации TRPV1 рецепторов. Известно, что АТФ оказывает про-ноцицептивное действие опосредовано активацией P2X3 рецепторов тройничного нерва. Целью данной работы является исследование вовлеченности P2X3 рецепторов в эффектах сероводорода в тройничном нерве крысы.

Метод. Внеклеточный метод регистрировали сенсорных потенциалов действия (ПД) от периферического отростка тройничного нерва крысы (P30-40). В качестве донора H_2S использовали NaHS, так как в водных растворах он диссоциирует до иона натрия (Na^+) и гидросульфидного аниона (HS^-), который реагирует с протоном (H^+), образуя H_2S .

Результаты нашего исследования показали, что аппликация донора сероводорода NaHS (100мкМ) приводит к увеличению частоты ноцицептивных ПД от $0,45 \pm 0,17$ s⁻¹ в контроле до $1,002 \pm 0,27$ s⁻¹ к концу 20 мин присутствия в растворе ($n=5$, $p<0.05$) и может вносить вклад в патогенез первичных головных болей, в том числе мигрени. Для изучения роли P2X3 рецепторов в про-ноцицептивных свойствах донора сероводорода использовали специфический антагонист A317491 в концентрации 10 мкМ. Предварительная аппликация антагониста показала, что он не обладает собственным выраженным действием (частота в контроле составила $0,95 \pm 0,45$ s⁻¹; на фоне антагониста, перед подачей донора сероводорода – $0,84 \pm 0,30$ s⁻¹). Добавление в раствор донора сероводорода, на фоне A317491, привело к достоверному увеличению частоты ПД в тройничном нерве крысы ($2,07 \pm 0,65$ s⁻¹; $n=4$, $p<0.05$).

Выводы. Про-ноцицептивное действие сероводорода в системе тройничного нерва не связано с активацией P2X3-рецепторов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00256.

ВЛИЯНИЕ МОДАЛЬНОСТИ ПРЕДЪЯВЛЯЕМОГО ТЕКСТА НА СТРУКТУРУ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ВЗАИМОСВЯЗИ БИОПОТЕНЦИАЛОВ МОЗГА У ПОДРОСТКОВ 12 – 13 ЛЕТ

Кручинина О.В.^{1,2}, Толкачева Д. С.², Гальперина Е.И.^{1, 2}

¹ – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук;

² – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации,

г. Санкт-Петербург, Россия

e-mail: kruchinina_ol@mail.ru

Введение. Специфика организации пространственной синхронизации биопотенциалов мозга под влиянием различной модальности предъявляемого текста до сих пор недостаточно изучена. Подростковый период является важным критическим периодом не только для физиологического созревания, но и когнитивного развития, в частности, формирования навыков понимания и обработки текста. Целью исследования было изучение функциональной интеграции различных областей коры при восприятии написанных или предъявляемых на слух текстов подросткам 11 – 13 лет.

Методы. В исследовании принимали участие 37 подростков 11 – 13 лет (16 юношей). ЭЭГ непрерывно регистрировали от 20 монополярных отведений в фоне (с закрытыми глазами и при фиксации взора на точке), при чтении текста и при восприятии на слух. После чтения, прослушивания текста испытуемым предлагалось ответить на вопросы по содержанию, процент ошибочных ответов или отсутствия ответа на вопрос не превышал 10%. После очистки от артефактов для каждой 4 с эпохи анализа вычислялись матрицы коэффициентов кросскорреляции (КК) ЭЭГ от всех отведений попарно. По матрицам кросскорреляции ЭЭГ в 20 отведениях оценивали вклад каждой из зон коры в организацию пространственной синхронизации биопотенциалов (ПСБП) мозга. Для оценки особенностей топической организации ПСБП вычисляли число $V(i)$ для каждого из отведений ЭЭГ (где i – порядковый номер отведения) – «долю объема», приходящуюся на i -й вектор, характеризующую степень отличия i -го процесса от совокупности остальных. Для изучения влияния факторов «Модальность» предъявленного текста (зрительная или слуховая), «Пол» (юноши и девушки) на параметры ЭЭГ был использован дисперсионный многофакторный анализ (ANOVA).

Результаты. С использованием многомерного двухфакторного дисперсионного анализа выявлено, что паттерны пространственного распределения уровней синхронизации биопотенциалов, характеризующие совокупностью величин $V(i)$, различались при чтении текста и восприятии на слух и имели отличительные особенности при выполнении задания юношами и девушками. У мальчиков уровень ПСБП во время восприятия текста на слух по сравнению с фоном был выше в лобных областях билатерально (Fp1, Fp2, F3, F4). При чтении текста уровень ПСБП был выше в затылочных и теменных областях билатерально (O1, O2, P3, P4, TP1, TP2). У девочек уровень ПСБП во время прослушивания текста был выше в левых височных областях (T3, T5) по сравнению с фоном. Во время обработки письменного текста уровень ПСБП был выше в височной области справа (T2).

Выводы. Половые различия выявлены в пространственной синхронизации ЭЭГ у подростков 11 – 13 лет при обработке текстов, предъявляемых зрительно и на слух. Влияние модальности представленного текста проявилось у девочек увеличением ПСБП височных областей левого либо правого полушария при обработке текста, а у мальчиков – лобных либо затылочно-теменных областей билатерально.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 18-313-00169 и № 18-013-01082.

ИЗМЕНЕНИЕ РЕДОКС-МЕТАБОЛИЗМА КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ У КРЫС

Курмашова Е.Д., Дмитриева С.А., Гатаулина Э.Д., Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В.

Казанский федеральный университет, Казань, Россия

Казанский институт биохимии и биофизики, ФИЦ «Казанский научный центр РАН»,

Казань, Россия

Гомоцистеин – это тиолсодержащая аминокислота, промежуточный продукт цикла метионина. Изменения метаболизма данного соединения приводят к серьезным патологиям, вызывая нарушения развития нервной системы в онтогенезе и риск развития нейродегенеративных заболеваний. При высоком содержании в организме гомоцистеин обладает прооксидантной активностью, благодаря окислению содержащихся в нем SH-групп и образованию свободных радикалов. Несмотря на известные факты о нейротоксическом влиянии гомоцистеина, механизмы его действия на развивающийся мозг не известны. Целью настоящего исследования было исследование изменений редокс-метаболизма в центральной нервной системе у крысят с пренатальной гипергомоцистеинемией.

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 (Gerasimova et al 2017). Изменение редокс-метаболизма в головном мозге исследовали с помощью биохимических методов в течение постнатального периода развития центральной нервной системы (на первой, второй и четвертой неделе после рождения) по содержанию в тканях H_2O_2 и уровню перекисного окисления липидов (оцененного по содержанию малонового альдегида – МДА).

Нашими исследованиями показано, что у ювенильных крыс с пренатальной гипергомоцистеинемией наблюдается увеличению содержания H_2O_2 , усиление перекисного окисления липидов и развитие в тканях мозга оксидативного стресса. В течение первых недель жизни уровень H_2O_2 в контрольной группе составил – 4.0 ± 0.5 (n=7), 1.1 ± 0.1 (n=8) и 3.1 ± 0.5 мкмоль/г (n=6), соответственно на первой, второй и четвертой неделях постнатального развития. У животных с пренатальной гипергомоцистеинемией наблюдалось значительное увеличение содержания H_2O_2 на первой неделе жизни до 5.4 ± 0.5 мкг/г (n=6). На второй неделе жизни у экспериментальных животных содержание H_2O_2 в мозге составило 1.8 ± 0.2 мкг/г (n=22), что достоверно выше, чем в контрольной группе животных этого возраста. У животных на четвертой неделе жизни содержание H_2O_2 достоверно не отличалось от контрольного варианта и составляло 2.7 ± 0.2 мкг/г (n=7). В течение всего месяца после рождения у животных с пренатальной гипергомоцистеинемией наблюдалось достоверное увеличение уровня

перекисного окисления липидов до 7.6 ± 0.7 мкг/г (n=6), 10.1 ± 0.8 мкг/г (n=22) и 7.6 ± 0.7 (n=5) мкг/г. Уровень МДА в контрольной группе составил 5.1 ± 0.4 мкг/г (n=7), 6.1 ± 0.3 мкг/г (n=22) и 5.2 ± 0.3 мкг/г (n=6), соответственно на первой, второй и четвертой неделях постнатального развития.

Таким образом, установлено, что в условиях гипергомоцистеинемии клетки центральной нервной системы находятся в условиях окислительного стресса, интенсивность которого сохраняется на всем протяжении постнатального периода развития мозга.

Работа поддержана грантом РФФИ: 18-015-00423

ОСОБЕННОСТИ ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ СТУДЕНТОВ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ГОТОВНОСТИ К РИСКУ

Лиля Н.Л.

Государственное Учреждение Луганской Народной Республики «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», Луганск, Украина.

Поведение человека связанное с принятием рискованных решений рассматривается как адаптация к социально-неблагоприятным условиям. Молодежь – это одна из наиболее чувствительных социальных групп, которая подвержена большому количеству стресс факторов вызывающих дезорганизацию личности и склонность к эпизодическому потреблению алкоголя в малых и средних дозах 1 – 4 раза/месяц. Изучить особенности ориентировочно-исследовательского поведения студентов, имеющих разный уровень готовности к риску и их изменения под влиянием психоактивных веществ, было целью данного исследования.

В исследовании приняли участие 60 студентов мужского пола 2 курса Луганского медицинского университета. Испытуемые проходили ряд психофизиологических тестирований: готовности к риску по методике А.М. Шуберт, ситуативной (СТ) и личностной тревожности (ЛТ) С.Д. Спилбергера, уровня самоконтроля в стрессовых ситуациях по методике А.О. Прохорова психоэмоционального напряжения (ПН) по А.Б. Николаеву. Оценка ориентировочно-исследовательского (ОИП) и сложного результативного поведения (РПС) с повторным исследованием под влиянием психоактивных веществ проводили путем регистрации мануального исследования закрытого пространства коробки со сложной внутренней конфигурацией и мелкими предметами в ней, с «неприятными, но не угрожающие жизни» предметами. Регистрировали время исследования с момента погружения руки в полость коробки, изучением ее внутреннего содержимого, до момента ее извлечения. После регистрации ОИП, у каждого исследуемого оценивали результативное сложное поведение – РПС, путем поставленной ему определенной задачи. Затем 22 студентам предлагалось осуществить пероральный прием 40% этанола в дозе 1,5 г/кг., другим 18 испытуемым со стажем курения 3 – 4 года предлагалось отказаться от курения за 2 часа до эксперимента, а после выкурить одну сигарету (0,5 мг. никотина). Оценку влияния ОИП и РПС проводили до и после потребления психоактивных веществ с интервалом 15 минут. Группа студентов из 20 испытуемых, представили контрольную группу, у которых проводили также регистрацию ОИП с таким же интервалом, без применения психоактивных веществ. Статистическую обработку проводили, используя критерий Манна-Уитни.

Выявлено что лица с высокой готовностью к риску (23 студента) склонны к увеличению времени ОИП $85,43 \pm 8,2$ секунд, характеризуются высоким уровнем ЛТ $51,13 \pm 7,9$ баллов, низким самоконтролем в стрессовой ситуации $6,7 \pm 0,7$ баллов, и высоким уровнем напряжения $20,13 \pm 3,7$. Студенты с высокой осторожностью (24 исследуемых) имеют низкую скорость ОИП $23,57 \pm 6,3$ секунд, высокий уровень СТ $42,75 \pm 9$, при среднем уровне самоконтроля в стрессе $3,3 \pm 0,8$, и средним уровнем напряжения $9,2 \pm 2,1$. В промежуточную группу отнесены 13 студентов у которых ОИП составило $39 \pm 4,2$ секунд, по психофизиологическим показателям не имели четко выраженной зависимости.

Наблюдалась достоверная корреляция между уровнями готовности к риску (0,860), самоконтроля к стрессу (0,532) и эмоционального напряжения (0,602) с длительностью ОИП. Введение как этанола так и никотина подавляли рискованное поведение и увеличивали готовность к риску у лиц с высокой осторожностью. Этанол удлинял РПС у лиц с высокой готовностью к риску и снижал их у студентов с высокой осторожностью. Никотин ускоряет РПС только у «рискованных» студентов.

БУЛЬБАРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ БОЛЕВЫХ СИГНАЛОВ В НОРМЕ И ПРИ КИШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

Любашина О.А.^{1,2}, Сиваченко И.Б.¹, Соколов А.Ю.^{1,2}

¹ – ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук,

² – Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Супраспинальным механизмам отводят ведущую роль в патогенезе хронических висцеральных болевых синдромов. Однако особенности супраспинальной обработки висцеральных болевых сигналов по отношению к соматическим и нарушения в этих специфических процессах, способствующие развитию висцеральной гипералгезии при разных видах патологии, не ясны. В связи с этим целью нашего исследования, проведенного на анестезированных уретаном (1.5 г/кг, в/бр) крысах линии Вистар, являлось определение нейрональных механизмов, обеспечивающих селективный контроль висцеральной и соматической ноцицепции на уровне продолговатого мозга, и изучение особенностей их реализации при воспалении толстой кишки.

Регистрацию активности бульбарных нейронов осуществляли внеклеточно с помощью вольфрамовых микроэлектродов в лаковой изоляции с кончиком 1 мкм и сопротивлением 12 МОм. Мониторинг нейрональной активности производили параллельно с регистрацией дыхания и системного артериального давления (АД) через трахеостомическую трубку и канюлю в бедренной артерии соответственно. Для инициации висцеральной боли использовали ноцицептивное растяжение колоректальной области толстой кишки (КРР) с помощью резинового баллона, раздуваемого воздухом до давления 80 мм рт.ст. В качестве соматического болевого раздражения применяли сильное сдавливание хвоста крысы металлическим зажимом с фиксированным расстоянием между браншами. Все эксперименты проводили на двух группах животных – с исходно интактным кишечником или с 6 – 8 дневным

экспериментальным колитом, вызванным предварительным введением пикрилсульфониевой кислоты (20 мг в 0.2 мл 50% этаноле).

У здоровых крыс в вентролатеральной ретикулярной области (ВЛРО) продолговатого мозга были выявлены три популяции нейронов: 1) возбуждающиеся только при КРР (32% зарегистрированных), 2) активирующиеся только в ответ на сдавливание хвоста (44%) и 3) реагирующие возбуждением на оба вида болевого раздражения (24%). При этом КРР в 79% случаев сопровождалось уменьшением частоты дыхания и снижением системного АД, тогда как в 64% опытов со стимуляцией хвоста наблюдалось учащение дыхания и повышение уровня АД. В свою очередь, у животных с колитом в ВЛРО было зарегистрировано меньшее по сравнению с нормой количество нейронов, селективно возбуждающихся только в ответ на стимуляцию кишки (18%) или хвоста (34%), при большем числе клеток, реагирующих на оба раздражения (48%). Параллельно было отмечено существенное усиление нейрональных ответов не только на висцеральное, но и соматическое болевые воздействия, которые в 61% и 57% случаев соответственно сопровождалось сходными реакциями повышения частоты дыхания и системного АД. Полученные данные свидетельствуют о существовании на уровне продолговатого мозга дифференцированных нейрональных механизмов для обработки висцеральных и соматических болевых сигналов, которые могут быть вовлечены в реализацию специфичных для разных видов боли респираторных и сердечно-сосудистых рефлекторных реакций. Селективность этих механизмов существенно снижается при колоректальном воспалении, сопровождающимся общим усилением реактивности бульбарных нейронов не только к висцеральным, но и соматическим болевым сигналам. Эти нейрональные перестройки могут способствовать сочетанному развитию при кишечной патологии висцеральной и соматической гипералгезий и быть причиной унификации в этих условиях респираторного и сердечно-сосудистого сопровождения разных видов боли.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 18-015-00055).

ОСОБЕННОСТИ СНА ПТИЦ

Лямин О.И.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

Функция(ии) и биологическая роль сна до конца не понятны. Один из подходов в изучении сна состоит в исследовании его феноменологии и нейрофизиологических механизмов у видов разных таксономических групп. Современное представление о состоянии сна состоит в том, что основные его признаки есть у всех животных, от простейших форм до млекопитающих, но две дифференцированные стадии сна – медленноволновый (МС, включая билатерально симметричный и однополушарный сон) и парадоксальный сон (ПС, быстрый, РЕМ сон), есть только у млекопитающих (за исключением китообразных) и у птиц. Сон у птиц действительно сопровождается очевидными поведенческими признаками сна млекопитающих – неподвижностью и закрыванием одного или двух глаз. В то же время некоторые птицы могут спать во время полета (например, фрегаты). Продолжительность сна у разных видов отличается в несколько раз и зависит от фазы биологического цикла. Ответ на вопрос о возможности гомеостатической регуляции сна у птиц остается открытым. Считается, что основные признаки ПС млекопитающих (корковая активация, быстрые движения глаз, сниженный мышечный тонус) регистрируются у птиц. На самом деле атония во время ПС у

птиц развивается редко, а сами эпизоды длятся, как правило, не более 5 – 10 сек (за исключением страусов, представителя одной из самых базальных групп птиц). Поэтому, применяя традиционные полиграфические критерии, точно определить границы этого состояния у птиц крайне сложно. На основании регистрации активности отдельных нейронов у млекопитающих было установлено, что ключевые структуры для запуска ПС находятся в стволе, а МС запускается в преоптической зоне головного мозга. В то же время, наши знания об особенностях сна птиц сформировались в первую очередь на основании регистрации электроэнцефалограммы (ЭЭГ) – эпифеномена активности тысяч нейронов коры мозга. Проведенные нами первые эксперименты по регистрации активности нейронов переднего мозга и ствола мозга у неанестезированных свободно-передвигающихся птиц (домашних кур) свидетельствуют, что изменение паттерна разряда большинства зарегистрированных нейронов в цикле сон-бодрствование связаны с разными формами активности (например, кормление, реакция на новые стимулы) и движениями туловища, конечностей или глаз. Небольшое число нейронов увеличивали частоту разряда во время МС или коротких эпизодов ПС. Дальнейшие исследования особенности активности нейронов разных отделов мозга птиц позволит выяснить сходство и различия механизмов генерации МС и ПС у птиц и млекопитающих. Исследование сна у птиц – перспективное направление нейробиологии, которое поможет понять фундаментальные функции сна у теплокровных, включая человека.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 18-04-01252

КАЛЬБИНДИН- И КАЛЬРЕТИНИН-ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕ НЕЙРОНЫ МЕТАСИМПАТИЧЕСКИХ ГАНГЛИЕВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Маслюков П.М.¹, Будник А.Ф.²

¹ – Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

*² – Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова,
Нальчик, Россия*

К внутриклеточным кальций-связывающим белкам, наиболее распространенным в нервной системе, селективно экспрессирующимся в определенных популяциях нейронов, относятся кальбиндин (КБ) массой 28 кДа и кальретинин (КР). При этом особенности возрастного развития кальций-регулирующих систем, в том числе КБ и КР в нейронах автономной нервной системы остаются малоизученными, хотя отдельные работы свидетельствуют о выраженных возрастных изменениях экспрессии этих пептидов.

Исследование проведено на 30 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30 суток, 2 и 24 месяца с соблюдением национальных и международных этических норм обращения с лабораторными животными. Локализация, процентное содержание и морфометрические характеристики КБ и КР иммунопозитивных нейронов в интрамуральных узлах межмышечного и подслизистого сплетения двенадцатиперстной кишки крыс в постнатальном онтогенезе определялись при помощи иммуногистохимических методов с использованием двойного мечения антителами и последующей флуоресцентной микроскопией. Статистический анализ включал определение средней арифметической, ее стандартной ошибки, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты показали, что КБ и КР-иммунореактивные нейроны выявлялись у всех исследованных крыс от новорожденных до старых. Доля КР-иммунореактивных нейронов заметно увеличивалась в первые 10 суток жизни и далее достоверно не изменялась, в том числе и у старых животных. Процент КБ-содержащих нейронов возрастал в первые 20 суток жизни, незначительно снижался к концу первого месяца и далее достоверно не менялся. Большая часть нейронов солокализовала КБ и КР уже у новорожденных животных. Средний размер КБ- и КР-иммунореактивных клеток являлся достоверно больше средней площади сечения иммунонегативных нейронов во всех возрастных группах.

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

НЕЙРОПЕПТИД Y-ЕРГИЧЕСКАЯ ИННЕРВАЦИЯ ТОНКОЙ КИШКИ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Маслюков П.М.¹, Будник А.Ф.²

¹ – Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

² – Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова, Нальчик, Россия

Нейропептид Y (НПУ) и его рецепторы играют исключительно разнообразную роль в нервной системе, включая регуляцию насыщения, эмоционального состояния, артериального давления, гастроинтестинальной секреции. НПУ весьма распространен в автономной нервной системе и в большом количестве обнаруживается в волокнах, иннервирующих сердце, коронарные и мозговые артерии, аорту, сосуды кожи и скелетных мышц у крысы, кошки, морской свинки, человека. Целью настоящей работы явилось определение НПУ-позитивных волокон и нейронов интрамуральных узлов, иннервирующих тонкую кишку, а также выявление рецепторов к НПУ типов Y1, Y2 и Y5 при помощи иммуногистохимических методов и вестерн-блоттинга.

Исследование проведено на 35 белых крысах-самках линии Вистар в возрасте 1, 10, 20, 30, 60 суток с соблюдением национальных и международных этических норм обращения с лабораторными животными. Исследованию подвергали двенадцатиперстную кишку. Выявление структур, содержащих НПУ, Y1, Y2 и Y5 рецепторы к НПУ, проводили при помощи иммуногистохимических методов и вестерн-блоттинга.

Результаты показали, что НПУ-содержащие волокна и нейроны обнаруживались в тонокй 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 была наименьшей и достоверно возрастала с момента рождения в течение первых 20 суток жизни, далее существенно не изменяясь, в том числе и у старых двухлетних крыс.

Экспрессия рецепторов Y5 являлась наиболее выраженной у новорожденных и значительно снижалась первые 10 суток, далее не изменяясь. В противоположность, плотность Y1 и Y2 рецепторов увеличивалась в онтогенезе. При этом Y1 рецепторы определялись в небольшом количестве у новорожденных крыс и их количество достоверно возрастало в первые 20 суток жизни, Y2 рецепторы выявлялись лишь с 20 суток жизни, не меняя в последующем степень экспрессии ($p > 0,05$). По данным вестерн-блоттинга, экспрессия Y2 рецепторов была значительно меньше в сравнении с Y1 рецепторами у всех крыс ($p < 0,05$).

Таким образом, у крыс НПУ-ергическая иннервация кишки присутствует с момента рождения. В раннем постнатальном онтогенезе происходит увеличение количества НПУ-содержащих нейронов, плотности НПУ-позитивных волокон, а также Y1 и Y2 рецепторов, в то же время доля Y5 рецепторов снижается. Вероятно, указанные изменения связаны с трофическим действием НПУ.

СРАВНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ПОЗЫ В ПОЛОЖЕНИИ СТОЯ И НА КОЛЕНЯХ

Мельников А.А.¹, Малахов М.В.²

¹ – Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского, Ярославль, Россия

² – Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

В повседневной жизни человеку часто приходится принимать положение на коленях, например, пациентам при реабилитации после инсульта, спортсменам во время тренировок. Кроме того, представители многих профессий (шахтёры, садовники, укладчики багажа и т.д.) вынуждены подолгу находиться в положении на коленях в процессе осуществления трудовой деятельности ввиду недостатка свободного пространства. Следует отметить, что длительная работа в положении на коленях может являться причиной травм. Следовательно, вопрос об особенностях постральной устойчивости в положении на коленях заслуживает серьёзного рассмотрения. Вместе с тем, в доступной нам литературе исследований на данную тему мало.

Таким образом, цель настоящей работы – сравнить вертикальную устойчивость в позициях стоя и на коленях.

В экспериментах участвовало 48 здоровых добровольцев (27 мужчин, 21 женщина) в возрасте 18 – 27 лет. Функция равновесия оценивалась с помощью стабилграфической платформы «Стабилан 01-2» (ЗАО ОКБ «Ритм»). Вертикальная устойчивость оценивалась в двух положениях – «Стоя» и «На коленях». В положении «Стоя» испытуемые стояли на платформе в обычной вертикальной стойке (руки вдоль туловища), стараясь совершать как можно меньше движений. В положении «На коленях» испытуемые стояли на стабилграфической платформе на коленях (угол между бёдрами и голенью составлял 90°). Стабилграфическая платформа помещалась на постамент, высота которого соответствовала длине голени. Таким образом, пальцы ног испытуемых не касались пола. Регистрировались следующие стабилометрические параметры: средний разброс смещения центра давления (ЦД) во фронтальной и сагиттальной плоскостях, а также среднюю скорость колебаний ЦД. Считается, что средняя скорость смещения ЦД отражает активность системы пострального контроля, необходимую для поддержания равновесия. Разброс смещения ЦД характеризует амплитуду колебаний тела; чем меньше разброс, тем лучше функция равновесия. Уровень достоверности различий оценивался с помощью парного t-критерия Стьюдента.

Установлено, что в положении «На коленях» разброс смещения как по фронтали ($p=0,02$), так и по сагиттали ($p=0,006$) был ниже, чем в положении «Стоя». Вместе с тем скорость колебания ЦД была на коленях примерно в два раза выше по сравнению с положением «Стоя» ($p<0.0001$). Наши данные указывают на более высокую устойчивость вертикальной позы в положении на коленях по сравнению с обычным положением стоя, что было обусловлено, по-видимому, более низким расположением центра тяжести. В то же время, повышенная устойчивость позы на коленях сочеталась с более напряжённым функционированием системы постурального контроля, что, как мы полагаем, было связано с (1) невозможностью использовать привычную постуральную стратегию, (2) меньшим количеством постуральных сегментов, а также (3) отсутствием соматосенсорной афферентации с голеностопных суставов и подошв.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОРЕКСИН-ПРОДУЦИРУЮЩИХ НЕЙРОНОВ ГИПОТАЛАМУСА С МОНОАМИНЕРГИЧЕСКИМИ СИСТЕМАМИ МОЗГА

Михайлова Е.В., Морина И.Ю., Романова И.В.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова,
Санкт-Петербург, Россия*

Орексин А и Б (или гипокретины 1 и 2) – пептиды, которые образуются из общей молекулы-предшественника пре-проорексина в мозге и в периферических тканях. В мозге экспрессия пре-проорексина осуществляется в нейронах перифорникальной области гипоталамуса, а их проекции выявлены в различных областях мозга, что свидетельствует о вовлечении орексинов в регуляцию различных функций. Известно, что эффекты орексинов опосредуются через два типа G-белок-связанных орексиновых рецептора (1 и 2), экспрессия которых также выявлена во многих зонах мозга. Функциональное значение орексина прежде всего связывают с регуляцией пищевого поведения как повышающего аппетит фактора и цикла бодрствование-сон. В регуляции этих функций также вовлечены дофамин и серотонин мозга. Исследование интегративных взаимодействий различных нейрхимических систем мозга расширяет представления об их совместном участии в регуляции общих функций.

В экспериментах использовали крыс Вистар и мышей C57Bl/6J. После наркоза хлорал гидратом (400 мг/кг) животных подвергали транскардиальной перфузии холодным фосфатным буфером (рН 7.4) и 4% раствором параформальдегида. После криопротекции в 30% растворе сахарозы мозг замораживали и хранили при -80°C . Исследование проведено на свободноплавающих и смонтированных на стеклах superFrost/plus (Menzel, Германия) фронтальных срезах мозга из перифорникальной области гипоталамуса, полученных с помощью криостата (Leica, Германия). Для двойного флуоресцентного иммуногистохимического исследования использовали смесь различных комбинаций первичных антител: кролика к орексину А (Sigma, США) с антителами овцы к триптофангидроксилазе (Millipore, США), или мыши к D1-рецепторам дофамина (Millipore, США); мыши к орексину А (R&Dsystems, США) с антителами кролика к 2C (Elabscience, США) или 1B (USBiologicals, США) рецепторам серотонина, или D2 (Millipore, США) рецепторам дофамина. Также были использованы смесь соответствующих вторичных антител против кролика, овцы и мыши, конъюгированных с различными флуорохромами (Alexa-488 и Alexa-568, Invitrogen, США). Анализ срезов проводили с помощью конфокального микроскопа DM16000 и лазерной установки SP5 II (Leica Microsystems, Германия). Изображения анализировали с помощью пакета программ Leica LAS AF.

Анализ изображений свидетельствует о локализации дофамин- и серотонинергических отростков вокруг тел орексинергических нейронов, а также об экспрессии D1 и D2 рецепторов дофамина, 1B и 2C рецепторов серотонина непосредственно в телах орексинергических нейронов. Полученные результаты демонстрируют возможность прямого участия дофамина и серотонина в регуляции функциональной активности орексинергических нейронов мозга через исследованные подтипы рецепторов, а изменение количества этих рецепторов в орексинергических нейронах при различных состояниях организма является свидетельством нарушения сигнальных путей, зависящих от серотонина или дофамина.

Исследование проведено при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-15-10388.

МЕЛАНКОРТИНОВАЯ СИСТЕМА ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Михайлова Е.В., Романова И.В.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова,
Санкт-Петербург, Россия*

Эпилепсия – тяжелое неврологическое заболевание, которым страдает огромное число людей. Причины, приводящие к эпилептическим припадкам, различны. Поиск ключевых мишеней, вызывающих нейрхимический дисбаланс мозга, является актуальной задачей физиологии и медицины. Гипоталамус – важнейший отдел мозга, который участвует в регуляции защитно-приспособительных и адаптивных реакций организма. В аркуатном ядре гипоталамуса локализованные нейроны, в которых вырабатывается различные пептиды, в частности меланокортиновые пептиды – продукты расщепления POMC (проопиомеланокортин) и AgRP (агути-подобный пептид). Проекция этих нейронов обнаружены в различных областях мозга, вовлеченных в развитие эпилепсии (гиппокамп, периформная кора, бугры четверохолмия). В литературе обсуждается метаболическая гипотеза возникновения нейродегенеративных и нейрональных заболеваний (Blass, 2001), согласно которой нейроны мозга ощущают энергетический кризис и в них развивается гипометаболизм (Zilberter, 20013). С этой точки зрения можно рассматривать роль меланокортиновых пептидов и AgRP не только как анорексигенных пептидов, участвующих в регуляции энергетического баланса организма, но и их участие в регуляции метаболических процессов в нейронах мозга. Использование генетических моделей эпилепсии животных – общепризнанный подход в экспериментальной физиологии. Ранее на крысах линии Крушинского-Молодкиной, генетически предрасположенных к аудиогенной судорожной активности, было показано изменение морфофункционального состояния меланокортиновой системы гипоталамуса, а использование синтетического антагониста меланокортиновых рецепторов (МКР) дозозависимо приводило к блокаде судорожных припадков.

Целью настоящего исследования было оценить функциональное состояние меланокортиновой системы гипоталамуса крыс линии WAG/Rij, генетически предрасположенных к другой форме эпилепсии (абсансной).

Для исследования использовали 7-месячных самцов крысы Вистар (n=6) и WAG/Rij (n=10, которые предварительно были тестированы на наличие эпилептической активности). После наркоза хлоралгидратом (400 мг/кг) животных декапитировали, ткань гипоталамуса замораживали в сухом льду. В дальнейшем была проведена экстракция общей РНК и с

помощью специфических праймеров (Евроген, Россия) методом ПЦР в реальном времени, сопряженным с обратной транскрипцией, был проведен анализ активности генов. Полученные результаты демонстрируют трехкратное снижение уровня мРНК POMC ($p < 0.05$), десятикратное снижение мРНК AgRP, а также уменьшение уровня МКР 3-го типа в 1,5 раза ($p < 0.05$).

Таким образом, у крыс WAG/Rij развитие абсансной эпилепсии сопровождается снижением активности меланокортиновой системы гипоталамуса – важнейшего центра мозга, регулирующего энергетический обмен, что, по-видимому, является проявлением общего метаболического статуса этих крыс и подтверждает участие меланокортиновой системы в патогенезе различных форм эпилепсии.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ NO-ЕРГИЧЕСКИХ СИМПАТИЧЕСКИХ ПРЕАНГЛИОНАРНЫХ НЕЙРОНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Моисеев К.Ю.

*Ярославский государственный медицинский университет,
Ярославль, Россия.*

NO является одним из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия в нервной, иммунной и эндокринной системе. В отличие от симпатических узлов, подавляющее большинство симпатических преанглионарных нейронов млекопитающих содержит NO-синтазу (NOS), которая при этом локализована с ферментом синтеза ацетилхолина – холинацетилтрансферазой (ХАТ). Важным является тот факт, что NOS-позитивные нейроны отсутствуют в симпатических узлах взрослой мыши и крысы, а также на протяжении постнатального онтогенеза, с момента рождения и до старости. В постнатальном онтогенезе в нейронах автономной нервной системы идет перестройка медиаторного состава. Тем не менее, возрастные аспекты синаптической передачи в автономной нервной системе с участием NO остаются неясными.

Целью исследования явилось выявление симпатических нейронов, иммунореактивных к NOS и ХАТ у крыс разного возраста при помощи иммуногистохимических методов. Исследованию подвергались симпатические узлы и Th2 сегмент спинного мозга крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние). Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил. Выявление нейронов, содержащих NOS и ХАТ, проводили при помощи двойного мечения антителами по методике ранее описанной нами. Вторичные антитела были конъюгированы с флуорохромами FITC и CY3. Анализ препаратов проводили на флуоресцентном микроскопе Olympus BX43 (Токио, Япония) с соответствующим набором светофильтров и охлаждаемой цифровой CCD камерой Tucsen TCC 6.1ICE с программным обеспечением ISCapture 3.6 (Китай). Для анализа размеров и процентного соотношения иммунопозитивных нейронов на цифровых изображениях гистологических препаратов использовали программу Image J (НИН, США, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Статистический анализ включал определение средней арифметической и ее стандартной ошибки. О значимости различий судили по величине t-критерия Стьюдента и считали их значимыми при $P < 0,05$.

Результаты показали, что во всех возрастных группах NOS-позитивные нейроны отсутствуют в симпатических узлах. В спинном мозге в боковых рогах NOS выявлялась в 1)

nucleus intermediolateralis thoracolumbalis pars principalis (nucl.IIp), 2) nucleus intermediolateralis thoracolumbalis pars funicularis (nucl.IIf); 3) nucleus intercalatus spinalis (nucl.IC); 4) nucleus intercalatus spinalis pars paraependymalis (nucl.ICpe); 5) nucleus intermediomedialis (nucl.IMm) с момента рождения у всех животных. Тем не менее, у новорожденных животных все нейроны в основном ядре nucl.IIp являлись NOS-позитивными, небольшая часть нейронов при этом являлась ХАТ-негативными. В течение первого месяца жизни доля NOS-иммунопозитивных нейронов существенно уменьшается, а ХАТ-положительных, наоборот, увеличивается. У одномесечных крысят 30 – 35% преганглионарных симпатических спинномозговых нейронов являются NOS-иммунонегативными. Эта доля остается в последствии почти неизменной, незначительно уменьшаясь у старых животных до 20 – 25%.

Таким образом в раннем постнатальном онтогенезе наблюдается возрастное изменение NO-ергической симпатической передачи, проявляющееся в снижении числа симпатических преганглионарных нейронов, экспрессирующих NOS.

Работа поддержана РФФИ, грант 16-04-00538.

МОДУЛЯЦИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ ОКСИДОМ АЗОТА В СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Моисеев К.Ю., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Актуальность. NO является одним из важнейших медиаторов внутриклеточного и межклеточного взаимодействия в нервной, иммунной и эндокринной системе. Важнейшей физиологической мишенью для NO является растворимая гуанилатциклаза, катализирующая биосинтез цГМФ. В постнатальном онтогенезе в нейронах автономной нервной системы идет перестройка медиаторного состава, изменяются электрофизиологические характеристики нейронной активности. 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 (НН), блокатора синтеза NO (L-NAME), активаторов протеинкиназы G – дб-цГМФ, 8Br-цГМФ и ингибитора растворимой гуанилатциклазы – ODQ.

Результаты показали, что в КШГ аппликация НН 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 НН, 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 НН, 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 НН 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. НН, 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.

ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ФОРМИРОВАНИЕ ОРЕКСИН- И ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ МОЗГА В ОНТОГЕНЕЗЕ КРЫСЫ

Морина И.Ю., Станкова Е.П., Романова И.В.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия*

Известно, что стресс, перенесенный во время беременности, может оказать влияние на формирование и активность нейромедиаторных систем развивающийся организм, и как следствие, включает адаптационные механизмы. Орексиnergическая система гипоталамуса, участвует в регуляции различных функций организма и имеет тесные взаимосвязи с дофаминергическими системами. Вопрос о влиянии пренатального стресса на формирование орексиnergической системы и установление ее взаимосвязи с дофаминергической системой в онтогенезе не изучен. Исследование этого вопроса важно для понимания последствий, которые могут возникнуть в нарушении систем организма, контролируемых этими системами, а также необходимости их коррекции.

Цель нашей работы: исследование функционального состояния орексиnergин- и дофаминергической систем гипоталамуса у крысят 14- и 30-дневного возраста в норме и после перенесенного пренатального стресса (ПНС).

Самки крысы Вистар (n=6) с 13 по 19 день гестации были подвергнуты стрессу с помощью метода «малых площадок» (Жуве, 1964): ежедневно на 6 часов их помещали на платформу диаметром 6.5 см, возвышающуюся над бассейном с водой. Методика сочетает комплекс стрессорных воздействий: депривация быстрого сна, ограничение подвижности, эмоциональный стресс, вызванный страхом падения в воду. После 20-го дня беременности самок содержали в стандартных условиях вивария, где происходило донашивание, роды и

выхаживание потомства, которое было исследовано на 14 (ПНС14) и 30-й (ПНС30) день жизни. Контролем стали крысы (К14 и К30), рожденные от интактных самок (n=6).

Гипоталамическую область использовали для определения уровня дофамина с помощью метода ВЭЖХ и фиксировали в 4 % параформальдегиде для проведения иммуногистохимических реакций на срезах мозга с антителами кролика к орексину-А (Sigma, США, 1:1000) биотин-стрептавидин-ДАБ-методом. Микрофотографии, полученные с помощью микроскопа Karl Zeiss (Axio Imager A1), анализировали в программе Image J. Оценка выборочных различий проводилась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) в пакете программ STATISTICA.10 при уровне значимости $p < 0.05$. Результаты представлены как среднее значение \pm ошибка среднего и в процентах по сравнению с контрольным уровнем (100%).

У крысят К30 отмечено увеличение уровня дофамина в гипоталамусе в 3 раза ($p < 0.05$, 0.56 ± 0.08 , 1.53 ± 0.23), снижение катаболического коэффициента дофамина на 70% ($p < 0.05$, 2.49 ± 0.30 , 0.65 ± 0.17), повышение оптической плотности орексина А в нейронах перифорникальной области на 50% ($p < 0.05$, 0.38 ± 0.05 , 0.58 ± 0.05), по сравнению с группой К30. У крысят ПНС14 и ПНС30 показатели уровня дофамина и его катаболический коэффициент достоверно не отличались и соответствовали уровню К30. В то время как оптическая плотность орексина А у крысят ПНС14 на 50% больше, чем у крысят ПНС30 ($p < 0.05$, 0.77 ± 0.02 , 0.59 ± 0.04), и на 50% больше по сравнению с группой К30.

Полученные данные демонстрируют однонаправленное повышение активности дофамин- и орексинергической систем гипоталамуса на 14-й день жизни после пренатального стресса. Преждевременная активация орексинергических нейронов может быть связана с их участием в компенсаторных механизмах, направленных на восстановление поврежденных систем мозга. Наши результаты свидетельствуют о формировании функциональной взаимосвязи между орексин- и дофаминергическими системами в раннем постнатальном периоде развития организма.

РИТМЫ ЭЭГ И РАБОЧАЯ ПАМЯТЬ

Мышкин И.Ю., Сафонов Н.Е.

Ярославский Государственный Университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия

Проблема нейрофизиологического обеспечения когнитивных процессов является актуальной для нейрофизиологии и психофизиологии. В работе исследована роль основных ритмов электрической активности мозга (ЭЭГ) в обеспечении процессов рабочей памяти.

Рабочая или оперативная память – подсистема временной организации памяти, связанная с хранением информации, необходимой для решения конкретной задачи, в течение времени, которое требуется для её решения. Рабочая память (РП) занимает особое положение среди всех, выделяемых на сегодняшний день подсистем памяти, и не может быть полностью описана в рамках существующих дихотомий: эксплицитная-имплицитная память; декларативная-процедурная; кратковременная-долговременная; семантическая-эпизодическая. В буферы рабочей памяти одновременно поступает как стимуляция из непосредственной окружающей среды, так и следы, хранящиеся в долговременной памяти (семантической, эпизодической или автобиографической), необходимые для решения текущей задачи. По времени хранения материала – от нескольких секунд до нескольких минут,

РП приближается к кратковременной памяти. Объем РП также не превосходит магического числа 7 ± 2 элемента. Отличительной чертой РП как теоретического объяснительного конструкта является сочетание в ней как процессов хранения информации, так и ее активной переработки и переструктурирования материала. Таким образом, РП сочетает в себе одновременно функции памяти и регуляторных процессов. Исследования рабочей памяти электрофизиологическими (EP, EEG) и нейровизуальными (fMRI, PET) методами показывают участие разных мозговых структур в этом процессе. Учитывая современные представления о системной организации мозга, представляет интерес изучение функционального взаимодействия различных корковых зон при реализации рабочей памяти.

Наши исследования показали, что при решении задач, связанных с участием рабочей памяти, происходит перестройка основных ритмов электроэнцефалограммы, характерных для состояния бодрствования. Выполнение задач, обеспечивающих элементарную нагрузку на рабочую память, приводило к увеличению амплитуды и мощности высокочастотного и низкочастотного диапазонов β -ритма в лобных отделах обеих полушарий коры мозга. Одновременно происходило увеличение мощности тета-ритма во фронтальных отделах правого полушария. Перестройка α -активности сопровождалась снижением мощности α -ритма в височных областях коры. Результаты корреляционного анализа между фоновыми характеристиками ЭЭГ и продуктивностью рабочей памяти показали, что мощность и амплитуда высокочастотного диапазона β -ритма лобных областей положительно связана с продуктивностью рабочей памяти. Однако увеличение нагрузки на рабочую память (увеличение сложности выполняемой задачи) характеризовалось возникновением отрицательной связи между продуктивностью памяти и β -ритмом височными областями коры. Исследование связи спектральных характеристик основных ритмов ЭЭГ с результатами теста на объем рабочей памяти показали ведущую роль α -диапазона. Была выявлена положительная связь между спектральными характеристиками α -ритма (частота и индекс ритма), преимущественно для центральных и затылочных областей коры, и успешностью прохождения теста на объем оперативной памяти.

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АНТАГОНИСТОВ ГЛУТАМАТНЫХ ИОНОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ NMDA ТИПА НА СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫСЫ

Николаев М.В., Комарова М.С.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург, Россия*

Глутамат является основным медиатором возбуждения в ЦНС позвоночных животных. Избыточное действие глутамата оказывает нейротоксическое действие, нарушает физиологическое равновесие процессов возбуждения и торможения. Быстрое возбуждающее действие глутамата опосредуется ионотропными глутаматными рецепторами, принадлежащими к группе лиганд-управляемых ионных каналов. Привлекательной является идея фармакологического воздействия на глутаматные рецепторы для коррекции избыточного действия глутамата. Однако из широкого спектра лигандов глутаматных рецепторов, известных к настоящему времени, большинство не выдерживают клинических испытаний, поскольку обладают побочным действием или не эффективны в допустимых концентрациях.

В настоящей работе мы изучили эффекты ряда антагонистов глутаматных рецепторов на функциональные свойства нейронов коры. Проведены электрофизиологические эксперименты patch-clamp (режим фиксации тока), в которых регистрировался мембранный потенциал клеток. Используются соединения с детально охарактеризованными молекулярными механизмами действия на глутаматные рецепторы. Эксперименты проводились на пирамидных нейронах префронтальной коры мозга крысы. Нейроны идентифицировались морфологически и обладали характерными электрофизиологическими характеристиками. Сравнено действие конкурентного антагониста NMDA рецепторов – APV и неконкурентных антагонистов, отличающихся взаимодействием с воротным механизмом рецепторов (9-аминокридин, ИЭМ-1921, мемантин).

Электрическая стимуляция синаптических входов пирамидных клеток вызывала генерацию ВПСП, которые в разной степени изменялись в присутствии соединений (вещества использованы в равноэффективной концентрации). В случае активации парой стимулов (межстимульный интервал 50мс) наблюдалось усиление второго ответа относительно первого, которое слабо изменялась в присутствии антагонистов NMDA рецепторов. Присутствие антагонистов не затрагивало потенциал покоя, постоянную времени и входное сопротивление мембран нейронов.

Полученные данные, соотнесенные с особенностями лиганд-рецепторного действия соединений, важны для предсказания эффектов соединений на нейроны в условиях живого организма и для направленного синтеза модуляторов глутаматных рецепторов с предсказуемыми эффектами на синаптическую передачу и нейронные сети.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00355.

ИНТЕРОЦЕПТИВНАЯ СЕНСОРНАЯ СИСТЕМА

Ноздрачев А.Д.

*Санкт-Петербургский государственный университет,
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН*

Впервые о внутриорганной чувствительности заговорил И.М. Сеченов, продолжил И.П. Павлов, обосновал принципы и механизмы В.Н. Черниговский.

Мы рассматриваем эту систему уподобляя её кристаллу с большим числом граней-компонентов, каждый со своей основной хемо-, механо-, осмо-, термо-, иммуно- и т.д. чувствительностью. Наряду с этим существуют и поливалентные грани, наиболее универсальной из которых является болевая чувствительность. С основными определяющими гранями она соединяется не только в известной последовательности, но даже одновременно с некоторыми из них. Возможно, благодаря именно такой конвергентно-дивергентной особенности интероцептивной сенсорики, да еще в привязке с анатомической топографией (соматическая, автономная: симпатическая пара- и метасимпатическая части) ее можно рассматривать как одну из существенных деталей механизма формирования общетревожного сигнала – своеобразной *внутренней пожарной сирены*.

В филогенетическом ряду позвоночных животных чувствительные нервные окончания лежат в межклеточном пространстве. Они выглядят в виде многомерной сети, пронизывающей всю иннервируемую массу. Именно в ячейках этой сети и располагаются моторные и секреторные клетки. Последние не имеют каких-либо специализированных

контактов, приспособлений и устройств. Такой тип иннервации ткани, когда абсолютное большинство клеток контактирует практически напрямую с нервными сенсорными терминалами, можно считать способом межтканевого взаимодействия или прямой чувствительной иннервацией. Вся первичная сенсорная функция в этом случае целиком перекладывается на внутриклеточную рецепцию. Последняя представлена в основном паттернраспознающими (TLRs) мембранными рецепторами.

TLRs впервые выделены у дрозофилы, позднее – у млекопитающих и даже растений. TLRs представляют собой белковые структурные комплексы из нескольких аминокислот, рассматривающихся как ключевой компонент врожденного и приобретенного иммунитета (Нобелевская премия, 2011. Rong, B.Beutler, J.Hoffmann, R. Scheinman). Главная биологическая роль этих рецепторов состоит в защите от инфекций, участии в процессах регенерации и апоптоза. TLRs экспрессируются с ванилоидными (болевыми) рецепторами (TRPV) той же нервной клетки, что свидетельствует об их взаимодействии в механизмах молекулярного уровня.

Роль TRPV рецепторов в восприятии именно боли установлена на мутантных мышах, лишенных генов этих рецепторов и утративших болевую чувствительность. В проведении воспринятой информации участвуют волокна всех частей автономной нервной системы – симпатической, пара- и метасимпатической.

В зависимости от характера информации, определяющей уровень поведения висцерального органа, интероцептивная сенсорная система способна дифференцированно использовать собственные (например, желудок-кишка) и сопряженные (там же, но уже с дополнительной сосудистой реакцией) рефлексии. Возбуждение по мере нарастания овладевает соматическим опорно-двигательным аппаратом, выходя, таким образом, на более высокий спинальный висцеро-соматический уровень регуляции, а затем к реакции дополнительно подключаются функциональные структуры и некоторых классических – зрительной, вестибулярной и иных сенсорных систем. В итоге формируется следующий висцеро-сенсорный уровень, характеризующийся возникновением зрительных, вестибулярных и прочих расстройств, сопровождающихся болевым синдромом.

Такая уровневая иерархия поведения систем организма в зависимости от вида и интенсивности интероцептивного стимула может привлечь внимание при ведении работы в прикладных, а также клинических исследованиях.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЖЕЛУДОЧКОВ И СОСУДИСТЫХ СПЛЕТЕНИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС НА РАННИХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

*Павлов А.В., Фоканова О.А., Прошутинская А.Д.
ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, Россия, г. Ярославль*

Проведено гистологическое и морфометрическое исследование желудочков головного мозга 15 крыс линии Вистар с точной датой рождения, возрастные группы – 2-3, 10, и 28 сут. Извлеченный из наркотизированных животных головной мозг фиксировали в забуференном 10% формалине и заливали в парафин; горизонтальные серийные срезы толщиной 3 – 4 мкм окрашивали гематоксилин и эозином.

Для оценки возрастной динамики объема боковых, 3 и 4 желудочков головного мозга (ЖГМ) выбирали срезы, на которых их площадь сечения была максимальной, значения показателя определяли на оцифрованных микрофотографиях ($\times 10$) путем обведения границ ЖГМ и последующих расчетов в морфометрической компьютерной программе ImageJ. Определение объемных фракций сосудистых сплетений в ЖГМ проводили стереологически на серийных срезах с помощью окулярной сетки с 60 равноудаленными узлами пересечения (об.40, ок.10). Статистическую обработку проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 8.0, проверку статистических гипотез – t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Максимальная площадь сечения (S_{max}) боковых желудочков у новорожденных составляет (883 ± 49 мкм²), к 10 дню жизни зарегистрирован рост показателя в 1,7 раза (1495 ± 52 мкм²) и последующая его стабилизация к 28 сут. (1425 ± 188 мкм²). Сходная возрастная динамика S_{max} наблюдается и в 3 желудочке: двукратный рост к 10 сут. (с 497 ± 84 до 1058 ± 139 мкм²) и стабилизация к концу первого месяца (1003 ± 90 мкм²). Размеры 4 желудочка увеличиваются в течение всего периода наблюдения: по сравнению с новорожденными (1927 ± 81 мкм²), S_{max} возрастают к 10 дню в 1,3 раза (2448 ± 46 мкм²), и к 28 дню – в 1,9 раза (3639 ± 248 мкм²).

Относительный объем сосудистых сплетений в боковых желудочках у новорожденных составил $38,4 \pm 1,1\%$; к 10 сут. данный показатель возрастает в 1,9 раза ($74,2 \pm 1,0\%$), а к 28 дню – стабилизируется на уровне $57 \pm 1,9\%$. В 3 желудочке в течение первых 10 дней изменений значений объемной фракции сосудистых сплетений не зарегистрировано ($63,0 \pm 4,5$ на 3 сут. и $61,8 \pm 0,8\%$ на 10 сут.; $p > 0,05$); на 28 сут. величина данного показателя составила $50,0 \pm 1,6\%$. В 4 желудочке на протяжении всего периода исследования достоверных изменений данного параметра не выявлено ($p > 0,05$), средние его значения поддерживались на уровне 21 – 27%.

Таким образом, наиболее интенсивные изменения изучаемых показателей зарегистрированы в боковых и 3 ЖГМ в течение первых 10 дней постнатального развития животных. Согласно проведенным расчетам в боковых желудочках скорость роста объема сосудистых сплетений (3,2) опережает темпы роста объема желудочков (2,0), а в 3 желудочке оба процесса идут с одинаковой скоростью (2,0 и 2,0). Поскольку сосудистые сплетения являются источником образования ликвора и обеспечивают его быстрый (разнонаправленный) ток за счет пульсации, обусловленной сердечной деятельностью, выявленные количественные закономерности отражают морфогенетические процессы последовательного созревания структур головного мозга, направленные на формирование сбалансированной дефинитивной системы ликвородинамики. Полученные данные хорошо коррелируют с результатами проведенного нами ранее прижизненного изучения двигательной активности цилиарного аппарата эпендимой выстилки данных отделов мозга в этих же возрастных группах (А.В. Павлов, О.А.Фоканова, 2017).

РОЛЬ КОМЕДИАТОРОВ СИМПАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МЕЖПРЕДСЕРДНОЙ ПЕРЕГОРОДКИ СЕРДЦА КРЫСЫ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Пахомов Н.В.¹, Пустовит К.Б.^{1,2}, Малолина Е.А.³

¹ – *Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия*

² – *Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

³ – *Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия*

Показано, что реализация регуляторных эффектов симпатического отдела вегетативной нервной системы в различных органах происходит не только за счет основного медиатора – норадреналина, но и посредством дополнительных медиаторов (комедиаторов). Комедиаторами могут являться соединения пуринового ряда, такие как АТФ и никотинамидадениндинуклеотид (НАД+). Известно, что у крыс созревание симпатической системы происходит к 7 дню постнатального развития. На сегодняшний день, исследований, посвященных изучению роли НАД+ и АТФ в миокарде межпредсердной перегородки (МП) недостаточно. Изучение влияния комедиаторов НАД+ и АТФ на работу сердца при неразвитой симпатической системе позволит получить полноценное представление о регуляции сердечно-сосудистой системы в раннем постнатальном онтогенезе.

Таким образом, цель данной работы заключалась в исследовании действия НАД+ и АТФ на биоэлектрическую активность в МП сердца крысы в условиях незрелой симпатической системы.

В работе использованы самцы белых беспородных крыс в возрасте 2 – 7 дней постнатального развития. Эксперименты были выполнены при помощи стандартной микроэлектродной техники с использованием изолированных многоклеточных перфузируемых препаратов МП и левого предсердия (ЛП) крысы (р-р Тироде, 37°C, рН=7.4). В одной серии экспериментов изучали самостоятельные эффекты АТФ и НАД+ на потенциалы действия (ПД) в электрически стимулированных препаратах МП и ЛП (4,5Гц), в другой – эффект АТФ и НАД+ регистрировали на фоне предварительной подачи норадреналина (НА, 1 мкМ) в покоящемся препарате МП, и со стимуляцией в ЛП. В работе оценивали влияние НА, АТФ (10 мкМ) и НАД+ (10 мкМ) на длительность ПД на уровне 25%, 50% и 90% реполяризации (ДПД_{25,50(90)}). В ходе экспериментов были соблюдены все требования этических норм работы с лабораторными животными.

Для НАД+ в ЛП, ДПД₂₅, 50 и 90 в базальных условиях составила 96±3%; 75±3%; 81±3%); при подаче АТФ ДПД снижалась до 86±3%; 84±4%; 87±2% от контрольных значений, соответственно, (n=8, p<0,05). НА в ЛП вызывал увеличение ДПД₂₅, ДПД₅₀ и ДПД₉₀ (на 96±2%; 42±3% и 12±2% от контрольных значений, соответственно, n=8, p<0,05). НАД+ в ЛП достоверно снижал ДПД, увеличенную норадреналином, особенно сильно ДПД₂₅ (до 75±3%; 78±2% и 76±4% от параметров, оцененных при подаче НА, n=8, p<0,05). При подаче АТФ на фоне норадреналина достоверного снижения ДПД₂₅%, как в случае с НАД+ не выявлено. ДПД₅₀ и 90 снижались до 86±4% и 78±5% n=8, p<0,05). В МП, НА индуцировал включение спонтанных ПД, с течением времени приобретающих ритмический характер, т.е. препарат работал в собственном ритме. Эффект НАД+ на фоне НА в МП также выражался в снижении

ДПД, но значимо более выраженном, чем без НА (до $80\pm 5\%$; $82\pm 4\%$; $73\pm 6\%$ $n=8$, $p<0,05$). АТФ на фоне НА снижал ДПД до $81\pm 3\%$; $83\pm 2\%$; $90\pm 4\%$. Кроме этого, в некоторых экспериментах НАД+ полностью подавлял индуцированный НА ритм в МП, чего не наблюдалось при подаче АТФ.

Таким образом, АТФ и НАД+ существенно снижают ДПД на фоне НА как в МП, так и в ЛП (особенно ДПД25 в случае НАД+, что может обуславливаться подавлением тока ICa_L .) Физиологическая роль таких эффектов пуриновых соединений может заключаться в ограничении адренергических влияний в сердце млекопитающих уже на ранних постнатальных стадиях онтогенеза в условиях незрелой симпатической иннервации.

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

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β В РЕАЛИЗАЦИЮ СТРЕССОРНЫХ РЕАКЦИЙ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Перцов С.С.

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина»,
Россия, Москва*

*ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им.
А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, Россия, Москва*

Цитокины – эндогенные полипептидные медиаторы межклеточных взаимодействий, которые обеспечивают поддержание клеточного и тканевого гомеостаза у млекопитающих в разных условиях жизнедеятельности. Имеющиеся научные данные указывают на участие цитокинов и, в частности, интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) в реализации стрессорного ответа. В наших предыдущих экспериментах было показано, что введение ИЛ-1 β животным приводит к реорганизации механизмов эмоциональной оценки отрицательных эмоциогенных факторов, предупреждает изменения внутренних органов при стрессорных воздействиях. Однако роль ИЛ-1 β в нейроиммунных взаимодействиях у млекопитающих с различными характеристиками поведения и соответственно с разной устойчивостью к стрессу остается мало изученной. Целью исследований, проводимых в лаборатории системных механизмов эмоционального стресса НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина, явилось выяснение центральных механизмов вовлечения ИЛ-1 β в организацию системных реакций организма у поведенчески пассивных и активных крыс при стрессорных нагрузках.

Выявлено, что ИЛ-1 β при микроионофоретическом подведении к нервным клеткам эмоциогенных структур головного мозга животных оказывает модулирующее воздействие на импульсную активность нейронов. Установлено, что отрицательное эмоциогенное воздействие на модели электростимуляции вентромедиального гипоталамуса у крыс сопровождается преимущественно повышением чувствительности нервных клеток мозга к ИЛ-1 β . Получены новые данные о характере взаимодействия ИЛ-1 β с одним из нейротрансмиттеров и медиаторов стрессорного ответа норадреналином на нейронах переднемедиальных отделов поясной коры. При отрицательном эмоциогенном воздействии у крыс обнаружено выраженное увеличение числа тормозных реакций корковых нейронов на микроионофоретическое подведение ИЛ-1 β после подведения норадреналина.

Обнаружено, что ИЛ-1 β играет важную роль в нейромедиаторной интеграции отрицательных эмоциональных состояний. Продемонстрировано, что как во время, так и после иммобилизации с электрокожным раздражением, поведенчески активные крысы характеризуются более значимой активацией норадренергических процессов в дорсальном гиппокампе по сравнению с пассивными особями. ИЛ-1 β при внутрибрюшинном введении оказывал стимулирующее действие на высвобождение норадреналина в дорсальном гиппокампе активных крыс во время стресса, но предупреждал повышение уровня нейротрансмиттера в постстрессорный период. Данный эффект может иметь значение для предотвращения негативных последствий стрессорной нагрузки, многие из которых формируются именно после окончания стресса.

Установлено, что ИЛ-1 β вовлечен в регуляцию соотношения окислительных и антиоксидантных процессов в гипоталамусе, сенсомоторной коре и миндалине крыс при стрессорных нагрузках. Внутрибрюшинное введение цитокина оказывало модулирующее влияние на активность антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и Cu/Zn-супероксиддисмутазы – с последующим изменением окислительного статуса тканей головного мозга животных. Выявлено, что ИЛ-1 β предупреждает постстрессорную активацию свободнорадикальных процессов и изменения антиоксидантной защиты в сенсомоторной коре поведенчески пассивных особей.

Представленные данные демонстрируют специфику центральных нейробиологических и нейрофизиологических механизмов, опосредующих участие ИЛ-1 β в системной организации физиологических функций у поведенчески пассивных и активных животных с разной прогностической устойчивостью к однотипным стрессорным воздействиям.

ИЗУЧЕНИЕ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ В СЕДАЛИЩНОМ НЕРВЕ КРЫСЫ ПОСЛЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

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

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины»,
Санкт-Петербург, Россия*

Исследования отечественных и зарубежных авторов показали, что применение клеточной и генной терапии может способствовать восстановлению периферических нервных проводников после травмы. Однако механизмы, стимулирующие репаративные процессы в поврежденном нерве, до сих пор неясны. Одним из важных условий для эффективной регенерации нерва является его кровоснабжение. Целью настоящего исследования явилось изучение васкуляризации седалищного нерва крысы после повреждения и введения нейральных клеток-предшественников или мезенхимных стволовых клеток (МСК). В работе использованы крысы Вистар и Вистар-Киото (n=40). При содержании и умерщвлении животных руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977г.). На уровне верхней трети бедра седалищные нервы крыс повреждали путем наложения лигатуры (40 с). Затем была осуществлена трансплантация клеточной суспензии, состоящей из клеток эмбрионального спинного мозга или из МСК (в количестве 5×10^4 клеток в 5 мл среды). Метод получения взвеси клеток и процесс трансплантации описаны ранее (Петрова и др. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2018. №1). Контролем служили животные, которым

вводили культуральную среду в том же объеме. МСК, полученные из костного мозга крыс Вистар-Киото, были любезно предоставлены авторам компанией ООО «Транс-Технологии» (ген. директор, к.б.н. Д.Г. Полинцев). Через 21 сут после операции выделяли сегменты седалищных нервов дистального конца на расстоянии 7 мм от места повреждения и фиксировали в растворе цинк-этанол-формальдегида. Анализ препаратов осуществляли на парафиновых срезах толщиной 5 мкм. Эндотелиальные клетки формирующихся кровеносных сосудов выявляли с помощью иммуногистохимического маркирования фактора Виллебранда. Использовали поликлональные кроличьи антитела в разведении 1:250 (Dako, Дания). В качестве вторичных антител применяли реагенты из набора Reveal Polyvalent HRP/DAB Detection System Kit (SpringBioscience, США). Для каждого животного измеряли площадь поперечного среза через нервный ствол седалищного нерва, осуществляли подсчет числа кровеносных сосудов эндоневрия на этой площади и пересчитывали на 1 мм².

Анализ срезов, проходящих через дистальный конец нерва реципиента, сделанных на расстоянии 7 мм от места наложения лигатуры и введения нейральных предшественников или МСК, показал, что васкуляризация нервов происходит по-разному в разных экспериментах. При трансплантации диссоциированных клеток спинного мозга число сосудов на единицу площади препарата не отличалось от контрольной группы. Напротив, результаты второго эксперимента, в котором для пересадки использовались МСК костного мозга, показали, что нервные стволы таких животных более васкуляризованы. Число сосудов на единицу площади в них выше, чем у контрольных животных и у животных из первого эксперимента более чем в 1.5 раза. Результаты данного исследования продемонстрировали ангиогенную активность МСК. Ангиогенная активность МСК связана с тем, что они могут вырабатывать такие факторы роста, как VEGF, FGF2, фактор роста эндотелия сосудов, плацентарный фактор роста, фактор роста гепатоцитов, ангиопоэтин-1, ангиогенин и другие стимулирующие образование сосудов вещества. Предположительно и в нашем случае благоприятное влияние на васкуляризацию нерва пересаженных МСК связано с комплексом различных ангиогенных факторов, которые способны синтезировать эти клетки.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГИППОКАМПАЛЬНЫХ АСТРОЦИТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ

Алекс Плата¹, Альбина Лебедева¹, Павел Денисов¹, Ольга Носова¹, Татьяна Постникова^{2,3}, Алексей Пимашкин¹, Алексей Браже^{4,5}, Алексей Зайцев^{2,6}, Дмитрий Русаков⁷, Алексей Семьянов^{1,5}

¹ – Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,

² – Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова,

³ – Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,

⁴ – Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,

⁵ – Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,

⁶ – Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова

⁷ – Институт неврологии Университетского колледжа Лондона.

Эпилепсия является группой неврологических заболеваний, связанных с нарушениями функций нейронов, которые приводят к патологической синхронизации нейрональной сети и

генерации судорог. Недавние исследования указывают на то, что астроцитарная дисфункция также может вовлекаться в данную патологию.

Мы использовали литий-пилокарпиновую модель *status epilepticus* (*SE*) на крысах для оценки изменений в астроцитах. Эксперименты проводились на срезах гиппокампа через две недели после создания *SE*, пред началом спонтанных судорог. Окраска по методу Ниссля выявила значительную нейродегенерацию в пирамидных слоях гиппокампальных полей CA1, CA3 и *hilus*, но не в гранулярном слое зубчатой фассии. При этом наблюдалось небольшое, но статистически значимое увеличение плотности астроцитов, покрашенных астроцит-специфичным красителем сульфородамино 101, в *str. radiatum* поля CA1.

Для более детального морфологического анализа астроциты в этой области загружались флуоресцентным красителем Alexa Fluor 594 через патч-пипетку и визуализировались с использованием двухфотонного имиджинга. Анализ по методу Шолля не выявил изменений в размерах астроцитарных доменов и в числе астроцитарных отростков первого порядка, но показал статистически достоверное снижение числа дистальных отростков. Астроцитарные отростки, различимые с помощью световой микроскопии (веточки), являются достаточно крупными и содержат Ca^{2+} депо – митохондрии и эндоплазматический ретикулум. Астроцитарные Ca^{2+} депо служат для усиления Ca^{2+} ответов в этих клетках. Соответственно, атрофия астроцитарных веточек сопровождалась снижением размеров астроцитарных Ca^{2+} ответов, но не их частоты.

Дополнительно мы изучили объемную фракцию, занимаемую листочками – тонкими астроцитарными отростками, которые не могут быть визуализированы стандартными оптическими методами. Для этого мы сравнили среднюю флуоресценцию области листочков с флуоресценцией сомы (сوما имеет 100% объемную фракцию). Однако различий между контролем и животными после *SE* по данному параметру обнаружено не было. Таким образом, мы предположили, что *SE* запускает специфические изменения в морфологии астроцитов, которые приводят к изменению соотношения толстых астроцитарных отростков (веточек) и тонких (листочков). Это предположение было подтверждено с помощью анализа изменений спектра пространственной энтропии-сложности области астроцитарных отростков.

Помимо этого, нами было обнаружено нарушение связи астроцитов друг с другом посредством щелевых контактов (гап-контактов) после *SE*, что могло отразиться на пространственной буферизации ионов K^+ . Однако, записи K^+ токов в астроцитах с помощью метода патч-кламп в ответ на стимуляцию коллатералей Шаффера не подтвердили нарушений в эффективности удаления внеклеточного K^+ астроцитами.

Мы обнаружили, что величина долговременной синаптической потенциации в поле CA1 снижена после *SE*. Это снижение могло быть частично восстановлено при добавлении в раствор *D*-серина, ко-агониста NMDA рецепторов.

В заключение, мы предполагаем, что ремоделирование астроцитов после *SE* приводит к снижению Ca^{2+} -зависимого высвобождения *D*-серина этими клетками, что, в свою очередь, ослабляет синаптическую пластичность и может приводить к когнитивным нарушениям, связанным с эпилепсией.

Проект осуществлён при поддержке гранта КОМФИ 17-00-00412 (К): 17-00-00409, 17-00-00407, 17-00-00408.

ЭКСПРЕССИЯ NEUN В ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ЛУКОВИЦЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ КАПСАИЦИНА У КРЫС ИНФАНТИЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Пожилов Д.А., Румянцева Т.А., Москаленко А.В.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия.

Актуальность. Для всестороннего исследования возможностей влияния на нейрогенез необходимо детальное изучение нормальной морфологии нервной системы в возрастном аспекте и изменений клеточного состава нервной ткани при патологии. Перинуклеарная цитоплазма и ядро большинства зрелых нейронов содержит белок NeuN, моноклональные антитела к которому активно используются для их визуализации. Изменения экспрессии этого белка в эксперименте описаны в ряде работ, однако, зависимость реакции от возраста не оценивалась.

Цель работы: установить выраженность изменений экспрессии NeuN после введения токсических доз капсаицина в инфантильном возрасте.

Материалы и методы. Работа выполнена на 15 крысах-самцах линии Wistar. В контрольную группу вошли крысы 30, 60, и 90-суточного возраста. Экспериментальной группе животных на 30 сутки жизни трехкратно, с интервалом в сутки, вводился капсаицин в дозировке 30, 30 и 60 мг/кг. Материал забирали с учетом правил обращения с животными на 15, 30 и 60 сутки эксперимента (45, 60 и 90 сутки жизни соответственно). На парасагиттальных парафиновых срезах оценивалась численная плотность NeuN+ клеток на мм² и их доля в общем количестве нейронов. Иммуногистохимическую реакцию проводили по стандартному протоколу с докраской гематоксилином Майера. Достоверность различий при нормальном распределении показателей оценивали при помощи критерия Стьюдента, при отличном от нормального – использовали непараметрический критерий Уилкоксона (уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. Показатели численной плотности NeuN+ клеток в контрольной и экспериментальной группах представлены в табл. 1.

Таблица 1.

Численная плотность NeuN+ клеток в слоях обонятельной луковицы на мм²

| Возраст, сут контр. (эксп.) | Гломерулярный слой | | Наружный плексиформный слой | | Гранулярный слой | |
|-----------------------------------|--------------------|--------------|--------------------------------|-------------|------------------|-------------|
| | контр. | эксп. | контр. | эксп. | контр. | эксп. |
| 30 (0) | 4134±427,6 | 4134±427,6 | 1004±87,7 | 1004±87,7 | 4819±457,7 | 4819±457,7 |
| 45 (15) | - | 2556±67,5* | - | 845±45,2* | - | 2478±134,8* |
| 60 (30) | 4878±132,3* | 2813±123,2*° | 1239±153,2* | 834±54,3*° | 6238±197,7* | 2048±78,3*° |
| 90 (60) | 7647±420,2* | 3556±76,4*° | 2466±229,2* | 2076±94,5*° | 9445±442,2* | 2158±94,7 |

* – достоверно различается по отношению к предыдущему сроку, ° – по отношению к контрольной группе

В гломерулярном слое с 30 по 90 сутки жизни доля зрелых нейронов снижается с 70% до 50%, в наружном плексиформном слое – с 40% до 23-25%, в гранулярном слое доля зрелых нейронов снижается с 90% до 67%.

В целом численная плотность NeuN+ нейронов стабилизируется к ювенильному периоду. Снижение плотности обусловлено возрастным увеличением размеров нейронов.

В гломерулярном слое к 15 суткам эксперимента доля NeuN+ нейронов снижается до 40%, к 60 суткам достоверно не изменяется. В наружном плексиформном слое к 15 суткам эксперимента процент позитивных нейронов в общем количестве клеток меняется с начала эксперимента по 15 сутки с 40% до 15 – 17%, на 30 сутки составляет 20%, на 60 сутки – 23%.

В гранулярном слое к 15 суткам эксперимента доля NeuN+ нейронов снижается с 90% до 50%, к 30 суткам составляет 42%, затем вновь возрастает к 60 суткам до 76%.

В целом, после введения капсаицина, численная плотность NeuN+ нейронов в сравнении с контрольной группой снижается во всех слоях обонятельной луковицы. Пик токсического повреждения приходится на 15-30 сутки. Более всего снижение выражено в гранулярном слое (до 3,8 раз по отношению к возрастной норме). Доля зрелых нейронов в общем количестве клеток также существенно снижается и не восстанавливается до конца эксперимента.

ВЛИЯНИЕ ДЕАФФЕРЕНТАЦИИ КАПСАИЦИНОМ НА ЭКСПРЕССИЮ КАЛЬБИДИНА В ИНТЕРНЕЙРОНАХ ДОРСАЛЬНОГО РОГА ГРУДНОГО СПИННОГО МОЗГА ВЗРОСЛОЙ МЫШИ

Порсева В.В., Емануйлов А.И., Омельченко Д.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Целью исследования явилось изучение топографических, морфометрических и нейрохимических характеристик интернейронов дорсального рога грудного отдела спинного мозга (СМ) в условиях дефицита афферентации, вызванной системным введением капсаицина взрослым мышам.

Иммуногистохимическими методами исследовали экспрессию кальбиндина 28 кДа (КАБ) в интернейронах уровня Т3 – Т5 СМ у самок мышей C57BL/6 в возрасте 16 недель. Деафферентацию моделировали путем подкожного введения капсаицина (Capsaicin, Sigma) однократно в дозе 50 мг/кг в растворе фосфатно-солевого буфера PBS, 0.01 М, рН 7.4 (БиолоТ, Россия), содержащим 10% этилового спирта и 10% Твина 80 (R. Gamse, 1982). Забор материала осуществляли через 30 суток после введения раствора капсаицина – опытная группа (n=4) и одновременно с материалом группы контроля (n=4). Для выявления иммунореактивных (ИР) интернейронов использовали каждый пятый из серийных поперечных срезов СМ, подготовленных на криостате, толщиной 14 мкм. Гистотопографию ИР интернейронов соотносили с пластинками Рекседа. Окрашивание всей популяции спинальных интернейронов проводили флюоресцентным Нисслем. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011).

У мышей обеих групп наблюдения во всех пластинках дорсального рога СМ выявлены КАБ-ИР интернейроны. В группе контроля подсчет ИР интернейронов показал, что максимальное относительное содержание КАБ выявлялось в пластинках I и II – 27% и 29% соответственно. Во всех остальных пластинках содержание ИР субпопуляций интернейронов не превышало 11%: в III – 11,4%, в IV – 7,2%, в V – 10,9%, в области медиального края (ОМК) – 9,4%. КАБ-ИР интернейроны имели различные размеры: самыми крупными являлись интернейроны пластинки V ($175,0 \pm 9,86$ мкм²), самыми мелкими – пластинки I ($48,9 \pm 2,41$ мкм²), промежуточные размеры имели интернейроны пластинок II ($65,8 \pm 2,51$ мкм²), III ($65,9 \pm 3,03$ мкм²), IV ($95,1 \pm 5,70$ мкм²) и ОКМ ($85,3 \pm 6,14$ мкм²).

У мышей опытной группы максимальное относительное содержание КАБ-ИР интернейронов выявлялось в пластинке II (24%), а наименьшее – в пластинке I (5,8%). В других пластинках количество превышало показатели контроля и составило в III – 14,2%, в IV – 9,2%, в ОМК – 11,2%. В пластинке V относительное содержание КАБ-ИР интернейронов было значимо меньше группы контроля (7,6%). Площадь сечения субпопуляций КАБ-ИР интернейронов после введения капсаицина была меньше контрольных показателей во всех пластинках дорсального рога СМ: в I – на 15,7%, во II – на 34,5%, в III – 17,9%, в IV- 11,7%, в V – на 5,2%, в ОМК – на 25,2%.

Как видно, в условиях деафферентации капсаицином количество КАБ-ИР интернейронов в различных областях дорсального рога СМ изменялось разнонаправленно: в поверхностной области – уменьшалось, в глубокой области – преимущественно увеличивалось. Общее же количество интернейронов, выявляемых методом Ниссля в контрольной и опытной группах не различалось в пластинках IV, V и в ОМК. Увеличение же количества ИР интернейронов может свидетельствовать об увеличении экспрессии кальбиндина в ранее иммунонегативных клетках. Напротив, наблюдаемое уменьшение общего количества клеток на фоне введения капсаицина в пластинках I – на 30,6%, II – на 27%, III – на 29,2%, а также уменьшение числа и размеров КАБ-ИР интернейронов можно рассматривать как морфологические проявления функциональных (реактивных) изменений интернейронов грудных сегментов СМ мышей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 17-04-00349-а.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ КАЛЬЦИЙ-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ В ГРУДНЫХ СПИНАЛЬНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНАХ В УСЛОВИЯХ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ МЫШЕЙ

Порсева В.В., Емануйлов А.И., Омельченко Д.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Цель исследования состояла в изучении влияния антиортостатического вывешивания на морфометрические характеристики интернейронов, содержащих различные кальций-связывающие белки в дорсальном роге грудного отдела спинного мозга (СМ) мышей.

Для исследования были использованы самки мышей C57BL/6 в возрасте 16 недель: группа контроля (n=4), АОВ-группа (n=4) – животные, находившиеся в условиях антиортостатического вывешивания задних конечностей (Morey-Holton E.R., Globus R.K., 2002) в течение 30 суток. Интернейроны T3-T5 сегментов СМ, иммунореактивные (ИР) к кальбиндину 28 кДа (КАБ), кальретинину (КАР) и парвальбумину (ПАВ) изучали с использованием иммуногистохимических методов. Окрашивание всей популяции спинальных интернейронов проводили флюоресцентным Нисслем. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10

Результаты проведенного исследования показали, что в обеих группах наблюдения выявлялись субпопуляции интернейронов, которые содержали КАБ, КАР и ПАВ во всех пластинках дорсального рога, исключая пластинку I, где ПАВ не выявлялся. Топографически можно выделить четыре области расположения субпопуляций ИР интернейронов, в пределах которых они различались формой: поверхностная область – пластинки I–II, глубокая область

– пластинки III–IV, пластинка V, область медиального края (ОМК). В группе контроля относительное содержание ИР интернейронов было наибольшим для КАБ – в пластинках I (27%) и II (29%), для КАР – в пластинке II (21.5%), для ПАВ – в пластинках IV (5.7%) и V (6.2%) СМ. Количественное распределение субпопуляции КАБ-ИР интернейронов явилось преобладающим во всех пластинках дорсального рога. Самой малочисленной группой была субпопуляция клеток с ПАВ. ИР интернейроны имели различные размеры, но более крупными являлись интернейроны, содержащие КАБ и КАР, более мелкими – ПАВ.

У мышей АОВ-группы подсчет ИР интернейронов показал, что максимальное количество клеток к КАБ и КАР выявлялось в пластинке II, а наименьшее число – в ОМК. В пластинках I и II число КАР ИР интернейронов в АОВ-группе было значимо меньше, чем в контроле на 66.6% и 20.4% соответственно. В пластинках IV и V число ПАВ-ИР интернейронов также уменьшалось на 52.6% и 71.4% соответственно. Напротив, существенным было увеличение экспрессии КАБ в интернейронах глубокой области дорсального рога СМ после АОВ, где число интернейронов превышало таковые в контроле в пластинках III – на 48.3%, IV – на 54.2%, V – на 32.4% ($p < 0,05$). В пластинке I процент КАБ ИР нейронов после АОВ уменьшался в сравнении с контролем ($p < 0,05$). Средняя площадь сечения КАБ- и КАР-ИР интернейронов в пластинках I, II и III была меньше, чем в контроле, а в пластинках IV, V и в ОМК – превышала контрольные значения. Размеры ПАВ-ИР интернейронов превышали контрольные показатели только в пластинке V, не менялись в пластинке II и ОМК, и были значимо меньше в пластинках III-IV.

Таким образом, АОВ разнонаправленно меняет содержание кальций-связывающих белков в интернейронах дорсального рога СМ. В условиях данной модели экспрессия КАБ и КАР в интернейронах поверхностной области уменьшалась, но увеличивалась в интернейронах глубокой области дорсального рога СМ. При этом, выраженность указанных изменений в поверхностной области была более характерна для субпопуляций КАР ИР интернейронов, в глубокой области – для КАБ ИР интернейронов. Экспрессия ПАВ после АОВ была снижена в интернейронах и поверхностной, и глубокой областей дорсального рога СМ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 17-04-00349-а.

ТОПОГРАФИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ИНТЕРНЕЙРОНОВ ДОРСАЛЬНОГО РОГА ГРУДНОГО СПИННОГО МОЗГА В ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ БЕЛОЙ КРЫСЫ

Порсева В.В., Маслюков П.М.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Морфологическое разнообразие интернейронов серого вещества спинного мозга (СМ) является функционально обусловленным: интернейроны, выполняющие одинаковые функции имеют сходные структурные характеристики, и наоборот, интернейроны с функциональной принадлежностью к различным областям серого вещества СМ имеют различия и в структурной организации. Наиболее неоднозначными в структурном и нейрохимическом многообразии межнейронных связей являются спинальные интернейроны дорсального рога, формирующие функциональные модули различных видов чувствительности.

Целью исследования явилось изучение топографических, морфометрических и нейрохимических характеристик интернейронов дорсального рога грудного отдела спинного мозга (СМ) в раннем и позднем постнатальном развитии белой крысы.

Исследование проводили на 10 белых крысах-самках линии Wistar в возрастах 10 и 180 суток после рождения. Иммунореактивные (ИР) интернейроны к веществу Р (ВП) и белку нейрофиламентов 200 кДа (НФ200) выявляли иммуногистохимическими методами на серийных криостатных срезах толщиной 20 мкм. Гистотопографию ИР интернейронов соотносили с пластинками Рекседа. Окрашивание всей популяции спинальных интернейронов проводили флюоресцентным Нисслем. Для определения средних арифметических и их стандартных ошибок использовали программу Statistica, версия 10 (StatSoft, Inc., 2011).

В результате проведенного исследования установлено, что в исследуемых возрастах на поперечном срезе СМ в дорсальном роге выявлялись ИР интернейроны, содержащие ВП только в поверхностной области – в пластинке II, определяясь топографически в её дорсальной части. ВП-ИР интернейроны имели преимущественно округлую форму и очень малые размеры (до 200 мкм²), отростки были иммунонегативными. ВП-ИР интернейроны располагались в пределах пластинки очень плотно, количество их с возрастом животного практически не менялось: от 24,3±0,61 в 10 дневном возрасте до 22,5±0,43 в 180 дневном возрасте крысы. Возрастная динамика средней площади сечения ВП-ИР интернейронов заключалась в увеличении размеров клеток к 180 дневному возрасту на 8% (p<0,05).

ИР интернейроны, содержащие НФ200 выявлялись только глубокой области дорсального рога СМ – в пластинках III, IV и V. НФ200-ИР интернейроны были представлены двумя субпопуляциями клеток, одна из которых имела средние размеры (от 301 до 410 мкм²) и веретеновидную форму, другая – малые размеры (до 300 мкм²) и округлую форму. У всех НФ200-ИР интернейронов отмечалась интенсивная прокрашиваемость не только нейроплазмы, но и отростков. В исследуемых возрастах крысы на поперечном срезе СМ присутствовали лишь единичные интернейроны – 1-2 клетки в пределах указанных пластинок. Возрастная динамика средней площади сечения НФ-ИР интернейронов заключалась в увеличении размеров клеток к 180 дневному возрасту на 11% (p<0,05).

Исследование позволило выявить гетерогенность распределения вещества Р и белка нейрофиламентов 200 кДа в клеточных структурах дорсального рога, которая сохраняется к шестимесячному возрасту крысы и заключается в функциональной специфичности интернейронов, участвующих в образовании локальных нейрональных цепей, связанных преимущественно с тонкими С-волоконками (поверхностная область дорсального рога) и крупными миелиновыми А-волоконками (глубокая область дорсального рога) первичных афферентов.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕДЛЕННЫХ КОЛЕБАНИЙ ВНУТРЕННЕГО ОПТИЧЕСКОГО СИГНАЛА ПЕРВИЧНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ С КРАЙНЕ МЕДЛЕННЫМИ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ ПРИ ЗРИТЕЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Пугачев К.С.¹, Филиппов И.В.¹, Бондарь И.В.²

¹-Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

²-Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

Актуальность. Анализ современных литературных данных, свидетельствует, с одной стороны, что при проведении оптического картирования мозга с использованием внутреннего оптического сигнала (ВОС) в сенсорных отделах коры больших полушарий могут быть обнаружены крайне медленные флюктуации уровня метаболического сигнала с периодом от нескольких секунд до десятков минут. С другой стороны, в настоящее время накоплено обширное количество доказательств существования разнообразных крайне медленных электрофизиологических феноменов в сенсорных областях неокортекса, в том числе на системном уровне – периодические флюктуации спектральных свойств ритмов электрокортикограммы (фсрЭКоГ), а также внеклеточные сверхмедленные колебания потенциалов (СМКП) головного мозга с частотами менее 0,5 Гц.

Цель работы - выявить взаимосвязь между флюктуациями внутреннего оптического сигнала при картировании первичной зрительной коры (ПЗК) мозга мыши и медленными биоэлектрическими процессами – СМКП и фсрЭКоГ.

Материалы и методы. Методическая часть исследования была основана на сочетании нейро-оптометрических и электрофизиологических подходов к изучению зрительной коры в ходе острых экспериментов на мышах в сочетании с цифровым анализом массива данных. Эксперименты были проведены на 10 взрослых мышах по пять повторных наблюдений у каждого животного (n=50). Продолжительность одного наблюдения составляла не менее 15 минут. Использовалась скотопическая монокулярная непрерывная зрительная стимуляция. В качестве зрительных стимулов были использованы смещающиеся по экрану полосы с разным уровнем контраста: от 2 до 100%. Такие стимулы, как известно, оптимально активируют нейроны поля 17 зрительной коры, позволяя получить ретинопические функциональные карты. Для оптического картирования использовался аппаратно-программный комплекс для регистрации внутреннего оптического сигнала коры VKImaging (США). Для записи электрофизиологических процессов была использована компьютерная электрофизиологическая система AlphaOmega AlphaLab Pro (Израиль).

Результаты и их анализ. В ПЗК мышей при зрительной стимуляции присутствует разнообразная группа эндогенных биоэлектрических (фсрЭКоГ, СМКП) и неэлектрических (ВОС) процессов, которые по своим частотным характеристикам (частоты – менее 0,5 Гц) могут быть классифицированы как крайне медленные феномены (т.е. находящиеся во временных интервалах секунд, десятков секунд и минут). Ни один из этих типов активности не является артефактом других видов процессов и не дублирует изменения в них, т.к. непосредственная взаимосвязь их нативных изменений отсутствует, а значит, по-видимому,

эти феномены имеют и самостоятельное функциональное значение. Спектральные характеристики флюктуаций ВОС секундного и многосекундного диапазонов очень сильно взаимосвязаны со спектральными свойствами крайне медленных периодограмм мощности бета- и гамма-ритмов ЭКоГ, что позволяет постулировать нейронные механизмы происхождения крайне медленных флюктуаций ВОС и тесную потенциальную взаимосвязь этих компонентов с флюктуирующими процессами анализа и переработки зрительной информации нейронами ПЗК.

Исследование проведено при поддержке РФФИ (проект 16-34-50072) в рамках конкурса научных проектов, выполняемых молодыми учеными под руководством кандидатов и докторов наук в научных организациях Российской Федерации.

ОСОБЕННОСТИ ВЕГЕТАТИВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ МИОКАРДИАЛЬНОЙ ТКАНИ МЕЖПРЕДСЕРДНОЙ ПЕРЕГОРОДКИ СЕРДЦА КРЫСЫ

Пустовит К.Б.^{1,2}, Пахомов Н.В.¹, Малолина Е.А.³

1 – Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

2 – Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

3 – Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва, Россия

На сегодняшний день проведено множество исследований, посвященных изучению биоэлектрической активности различных отделов сердца. Однако некоторые участки суправентрикулярной области сердца, такие как межпредсердная перегородка (МПП) остаются не исследованными. В силу особенностей эмбрионального развития (Mommersteeg et al., 2007) МПП может обладать иными электрофизиологическими характеристиками, нежели рабочий миокард предсердий. В частности, наличие в МПП первичного миокарда (Moorman et al, 2005), обладающего способностью к спонтанной деполяризации, может повлиять на ее электрофизиологические свойства, которые на сегодняшний день остаются практически не изученными. Особый интерес вызывают механизмы вегетативной регуляции МПП не только у взрослых животных, но и в раннем постнатальном онтогенезе. Известно, что у крыс в возрасте до 7 дней наблюдается феномен незрелости симпатической системы. В связи с этим, цель данной работы: определение особенностей биоэлектрической активности МПП у взрослых крыс и на ранних этапах постнатального онтогенеза, в том числе исследование симпатической и холинергической регуляции в МПП.

В работе использованы самцы крыс стока Wistar в возрасте 2,5 – 3 месяца (250 – 300г), а также новорожденные крысы (самцы стока Wistar) в возрасте 1 – 7 дней (P1-7). Эксперименты выполняли с использованием изолированных многоклеточных перфузируемых препаратов (адаптированный р-р Тироде, 37°C, рН=7.4) (МПП) и левого предсердия (ЛП) крыс в условиях электрической стимуляции (4,5Гц). Также проводили исследование на покоящихся препаратах. Влияние норадреналина (НА, 10 мкМ), фенилэфрина (ФЭ) (10 мкМ) и ацетилхолина (АЦХ) на длительность потенциалов действия (ПД) на уровне 50% и 90% реполяризации (ДПД50(90)) оценивали с помощью стандартной микроэлектродной техники.

В ходе экспериментов были соблюдены все требования этических норм работы с лабораторными животными.

В контроле ДПД50 и ДПД90 в МПП взрослой крысы составляла 20 ± 4 мс и 50 ± 9 мс ($n=6$), для P1-7 значения составили 22 ± 5 мс и 59 ± 4 мс ($n=6$) соответственно. В ЛП взрослых крыс ДПД составляли 14 ± 3 мс и 42 ± 6 мс ($n=6$) и для P1-7: 20 ± 2 мс и 62 ± 5 мс ($n=6$), соответственно. Показано, что НА у взрослых и в ЛП и в МПП вызывает статистически значимое снижение ДПД50 и ДПД90 (до $68 \pm 3\%$ и $63 \pm 4\%$ в ЛП и до $67 \pm 3\%$ и $69 \pm 5\%$ в МПП, соответственно, ($P(T) < 0,05$), тогда как у новорожденных ДПД значимо увеличивалась на $41 \pm 3\%$ и $11 \pm 2\%$ в ЛП и на $12 \pm 4\%$ и $47 \pm 5\%$ в МПП, соответственно в ритмически возбуждаемых препаратах ($n=6$). В покоящихся препаратах в МПП у P1-7 НА приводил к спонтанным ПД. Снижение ДПД наблюдали в ЛП у взрослых и у P1-7 при действии ФЭ и АЦХ. Однако в МПП, ФЭ обладает обратным эффектом: вызывает увеличение ДПД50 и ДПД90 (на $16 \pm 4\%$ и $13 \pm 3\%$ соответственно, у взрослых ($P(T) < 0,05$, $n=6$) и на $22 \pm 4\%$ и $13 \pm 3\%$). Кроме того, ФЭ вызывал возникновение спонтанной активности (спонтанных ПД) и у взрослых, и у P1-7 в МПП в покоящихся препаратах, чего не наблюдали при действии НА у взрослых. АЦХ в МПП в свою очередь у P1-7 (в покоящихся препаратах) приводил к полному подавлению ритма, чего не наблюдалось у взрослых в МПП.

Таким образом, ФЭ, НА и АЦХ оказывают существенное воздействие на ДПД МПП сердца крысы. Способность ФЭ и НА вызывать спонтанную активность в покоящемся миокарде МПП можно связать с несколькими механизмами: увеличением уровня цитоплазматического кальция, активации тока натрий-кальциевого обменника.

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

ПРОЛИФЕРАЦИЯ, НЕЙРО- И ГЛИОГЕНЕЗ ПРИ МЕХАНИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПОКРЫШКИ СРЕДНЕГО МОЗГА МОЛОДИ КЕТЫ *ONCORHYNCHUS KETA*

Пущина Е.В., Капустянов И.А., Вараксин А.А.

Национальный научный центр морской биологии ДВО РАН, 690041,

Владивосток, ул. Пальчевского, 17

E-mail: puschina@mail.ru

Методом ИГХ маркирования пролиферативного ядерного антигена (PCNA), протеина нейрональной дифференцировки (NuCD) и глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) на свободноплавающих срезах исследовали процессы пролиферации, конститутивного нейро- и глиогенеза в покрышке среднемозга мозга молодежи интактной кеты *Oncorhynchus keta*, а также через 3 дня после травматического повреждения данной области. В покрышке среднего мозга кеты выявлена пролиферативная активность в перивентрикулярной зоне, как в отдельных клетках, так и в небольших кластерах клеток. Наличие конститутивных нейрогенных зон обеспечивает процессы персистентного роста мозга. После повреждения покрышки активизируются пролиферация в перивентрикулярной зоне мозга, происходит реактивация конститутивных нейрогенных ниш и формирование реактивных нейрогенных ниш в паренхиме, а также пролиферативная активность инициируется в центрах вторичной пролиферации (базальной части покрышки). Травматическое повреждение покрышки среднего мозга приводит к ускоренной дифференциации нейронов в субвентрикулярной зоне и дорсомедиальной области покрышки,

а также появление NuCD⁺ клеток с эпендимо- и радиоглиальным фенотипом в субвентрикулярной зоне, отсутствующих у интактных животных. В результате повреждения мезенцефалической покрывки формируются локальные очаги посттравматического нейрогенеза, расположенные в паренхиме ретикулярной формации, а также зоны посттравматического глиоза, способствующему более эффективному процессу миграции клеток к зоне травмы.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что после травматического повреждения покрывки среднего мозга молодые кеты активизируются пролиферация в перивентрикулярной зоне, а также пролиферативная активность инициируется в базальной части покрывки. Нейрогенная активность в результате травмы приводит в действие механизмы активации дополнительной популяции нейрональных прогениторов, в частности наряду с эпендимоглиальной нейрогенной активностью, у молодых кетов была обнаружена радиально-эпендимоглиальная популяция клеток. Мы полагаем, что в результате посттравматического нейрогенеза ускоряется дифференцировка нейронов в субвентрикулярной зоне и более глубоких областях покрывки среднего мозга кетов. Травматическое повреждение покрывки приводит к формированию локальных очагов посттравматического нейрогенеза, расположенных в паренхиме, а также формированию зоны посттравматического глиоза. Последний, как мы полагаем, способствует более эффективному процессу миграции клеток к зоне травмы, и наряду с перивентрикулярной зоной участвует в восстановительных процессах.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ (МД-4318.2015.4) и Программы фундаментальных исследований ДВО РАН “Дальний Восток” на 2015–2017 гг. (проект № 15-1-6-116, раздел III).

ФОРМИРОВАНИЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ НА МОДЕЛИ МУТАНТОВ СИСТЕМЫ АВС-ТРАНСПОРТЕРА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Разумова М.О., Маслов Д.В., Костенко В.В.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Казань, Россия
vvkostenko1@gmail.com*

Сахарный диабет является проблемой общественного здравоохранения, которая затрагивает миллионы людей во всем мире. Инсулинорезистентный диабет сопровождается множеством патологий, включая ожирение, сердечно-сосудистые заболевания, жировую печень, невропатию, ретинопатию и нефропатию. Диабетическая невропатия (ДН) является распространенным расстройством и определяется как признаки и симптомы дисфункции периферических нервов у пациентов с сахарным диабетом (СД), у которого исключены другие причины дисфункции периферических нервов. Гены *white*, *brown* и *scarlet* дрозофилы принадлежат к системе АВС-транспортера и проявляют гомологию к субсемейству АВСG-транспортера человека, который играет важную роль в регуляции гомеостаза холестерина и секреции инсулина β -клетками. Поэтому, целью данного исследования было смоделировать диабетическую невропатию у *Drosophila* и оценить влияние высокоуглеродной диеты на изменение параметров локомоции у имаго, мутантных по генам АВС-транспортера.

Исследование было проведено с использованием мутантных линий *white (w)*, *brown (bw)* и *scarlet (st)* из коллекции кафедры генетики ИФМиБ КФУ. В качестве контроля служили мухи, выращенные на стандартной сахарно-дрожжевой среде. Высокоуглеродную диету создавали в момент личиночной стадии развития путем добавления сахарозы в концентрации 0,67М в питательную среду. Локомоцию насекомых оценивали у самцов (n=70) по вертикальному подъему имаго в пробирке (d=20 mm) на расстояние 10 см в течение 10 с, высчитывая затем индекс локомоции по проценту особей, достигших отметку к общему числу тестируемых объектов. По результатам локомоторного анализа и измерения массы тела (мг) в опытных группах судили о развитии диабетической нейропатии у дрозофилы. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения GrafPad Prism 6.

В результате проведенного исследования было показано, что мутанты по генам ABC-транспортера в контрольных группах различаются по индексу локомоции: *w* – 66,5%; *bw* – 88,8%; *st* – 92,2%. Развитие мух на высокоуглеродной среде приводит к снижению индекса локомоции: *w* – 25%; *bw* – 58%; *st* – 41%. Измерение массы тела в опытных группах показало значимое увеличение параметра для мутантов *w* ($1,15 \pm 0,004$) и *st* ($1,07 \pm 0,002$) по сравнению с контролем ($0,78 \pm 0,003$ и $0,84 \pm 0,004$, соответственно). Дисперсионный анализ данных, во-первых, выявил статистически значимое влияние высокоуглеродной диеты на формирование локомоторного поведения у самцов ($\eta = 73,6\%$; $F = 33,41$; $p = 0,004$), а во-вторых было показано достоверное влияние исследуемых мутантных генов ($\eta = 59\%$; $F = 28,56$; $p = 0,006$).

Таким образом, можно говорить, что полученные нами результаты свидетельствуют о развитии диабетической нейропатии у дрозофилы вследствие культивирования линий в условиях высокоуглеродной диеты, при этом весомый вклад в формирование поведения также вносят гены системы ABC-переносчика, которые характеризуются дефицитом в содержании ряда биогенных аминов и нейрогормонов.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК МОЗЖЕЧКА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЛУТАМАТА (GLU) И NO-ГЕНЕРИРУЮЩЕГО СОЕДИНЕНИЯ (NaNO₂)

Реутов В.П.¹, Самосудова Н.В.², Сорокина Е.Г.³, Сурин А.М.³, Пинелис В.Г.³

¹ – ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

² – ФГБУН Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН

³ – ФГАУ Национальный научно-практический центр здоровья детей Министерства здравоохранения РФ

В докладе представлен анализ данных литературы и результаты собственных исследований, полученных на мозжечке лягушки и зернистых клетках мозжечка в условиях токсического воздействия глутамата (Glu) и NO-генерирующего соединения. Такие условия, как известно, моделируют состояние инсульта. При гипоксии/ишемии мозга, геморрагических и ишемических инсультах, ведущими патогенетическими факторами повреждения нейронов являются гиперстимуляция Glu-рецепторов возбуждающей аминокислотой Glu, стойкое повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca²⁺, активация NO-синтаз и повышение содержания нитратов и нитритов в крови и мозге человека и животных. За этими процессами следует деэнергизация митохондрий, нарушение ионного гомеостаза, повреждение мембран

нейронов, глиальных клеток и субклеточных структур. Сравнительный анализ токсического воздействия Glu и NO-генерирующего соединения позволяет оценить роль нитрозативного стресса при развитии инсультов, вызванных гиперстимуляцией Glu-рецепторов. Под влиянием избытка Glu и NO-генерирующего соединения структура мозжечка нарушается. При этом наблюдаются: пластические изменения структуры синапсов и синаптических пузырьков – главных поставщиков нейромедиатора в мозге; отек нейронов; повреждения мембран нейронов, глиальных клеток и субклеточных структур; слияние нейронов на фоне нарушения целостности их мембран; активация астроцитов, образующих защитные спиралевидные структуры – «обкрутки» – вокруг активных зон, синапсов, бутонов и шипиков; формирование нейроглиальных контактов. В обзоре анализируется концепция, согласно которой повреждение мембран клеток и субклеточных структур при токсическом воздействии Glu, является следствием нарушения циклических регуляторных механизмов, связанных с *циклами оксида азота и супероксидного анион-радикала*, и появления высокореакционного соединения – диоксида азота (NO₂), способного окислять ненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов мембран, SH-группы серосодержащих аминокислот и OH-группы тирозиновых остатков белков, с последующим образованием нитротирозина. Новая концепция анализируется в контексте биогенетического закона (закон рекапитуляции) Мюллера-Геккеля, эволюционных идей Л.А. Орбели и английского невролога-психиатра Д.-Х. Джексона о возврате на более низкую ступень эволюции при развитии патологических процессов («диссолюция» по Джексону). Анализ механизмов токсического воздействия Glu и NO-генерирующего соединения, как модели инсульта, позволили предложить способы уменьшения повреждающего действия указанных выше веществ, которые можно использовать и частично уже используются в клинике при лечении ишемических и геморрагических инсультов, кровоизлияний и черепно-мозговых травм.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (грант № 17-15-0148717) и Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант № 18-015-00450).

НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ РОЛЬ НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ (НИАЦИНА) В КОНТРОЛЕ ЛОКОМОЦИИ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Санникова Л.А., Костенко В.В.

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

vvkostenko1@gmail.com

Drosophila melanogaster широко используемый модельный организм для понимания молекулярно-генетических и физиолого-биохимических механизмов заболеваний человека, поскольку почти 75% генов, вовлеченных в патогенез наследственных болезней человека, имеют функциональную гомологию у мух. Кроме того, в последнее время дрозофила используется как модель для поиска лекарственных средств в лечении ряда нейродегенеративных болезней человека. Выбранные для исследования гены *yellow* и *black* дрозофилы являются ортологами соответствующих генов человека *DPM3* (dolichyl-phosphate mannosyltransferase polypeptide 3 – приводит к врожденной мышечной дистрофии дистрогликанного типа) и *GADLI* (glutamate decarboxylase like 1 – ген, ассоциированный с развитием биполярного расстройства).

Никотиновая кислота (НК) участвует во многих окислительных реакциях в клетке и используется в клинической практике для лечения пеллагры, симптомом которой является деменция. Также применяется в качестве профилактического медикаментозного лечения, направленного на повышение познавательной функции в пожилом возрасте. Поэтому целью данной работы было изучить влияние никотиновой кислоты в контроле локомоторной активности и фототаксиса имаго *Drosophila melanogaster*.

В работе были использованы самцы мутантных линии *yellow* (*y*: CG3757) и *black* (*b*: CG7811) из коллекции кафедры генетики ИФМиБ КФУ. В качестве контрольной группы использовали мух, выращенных на стандартной сахарно-дрожжевой среде. НК добавляли в корм на стадии личинки в концентрации 10 мМ. Локомоцию лабораторных животных проводили, используя метод вертикального подъема мух в пробирке ($d=20$ mm) на расстояние 10 см в течении 10 с, рассчитывая затем индекс локомоции по проценту особей, достигших отметку к общему числу тестируемых объектов. Для анализа на фототаксис применяли метод Т-образного лабиринта, рассчитывая процент фотоположительных мух. В каждой группе было протестировано не менее 50 особей. Эксперимент по влиянию никотиновой кислоты на локомоцию и фототаксис проводили в трех повторностях. Статистическую обработку данных проводили, используя программу GrafPad Prism 6.

Проведенный нами анализ показал, что при развитии на стандартной среде мутанты *y* и *b* имеют различия в уровне локомоции: $42 \pm 2,16$ и $63 \pm 1,35$ соответственно. В то время как при развитии на среде с добавлением НК наблюдается значительное увеличение индекса локомоторной активности: *y* – $79 \pm 3,24$ и *b* – $98,7 \pm 2,71$. При этом было выявлено значимое влияние никотиновой кислоты на формирование локомоции у самцов, которое для *y* составило 53% ($F=11,57$; $p=0,007$) и 55% для мутантов *b* ($F=13,72$; $p=0,003$). Анализ на фототаксис в контрольных группах показал, что мутантные самцы *y* уступают в активности мутантам *b*. Количество фотоположительных особей составило 36% и 74% соответственно. Как и в случае с локомоцией, употребление НК на личиночной стадии развития приводит к существенному увеличению процента фотоположительных имаго: *y* – 94% и *b* – 96%. Дисперсионный анализ полученных результатов выявил достоверное влияние исследуемого фактора на формирование световой реакции для мутантных имаго. Так, для самцов *y* сила влияния НК составила 95% ($F=216,27$; $p<0,05$), а для *b* – 65% ($F=15,25$; $p=0,004$).

Таким образом, добавление в корм НК имаго, мутантным по генам *yellow* и *black* вызывает улучшение моторной и зрительной функций насекомых, проявляя нейропротекторные свойства. Очевидно, полученные нами результаты связаны с включением НК либо в биосинтез нейрогомонов серотонина и дофамина, либо в работу серотониновых и дофаминовых рецепторов, что будет выяснено в ходе гистологического анализа.

ПРОБЛЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ ГАМК_A-РЕЦЕПТОРОВ МЕТОДОМ ПЭТЧ-КЛАМП В КОНФИГУРАЦИИ «ЦЕЛАЯ КЛЕТКА»

Семёнов В.А., Амахин Д.В.

Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Десенситизация ГАМК_A-рецепторов играет важную роль в кинетике нервного торможения, что обуславливает большой интерес в ее изучении. Исследования

десенситизации ГАМК_A-рецепторов в основном проводятся методом пэтч-кламп в режиме фиксации мембранного потенциала. При записи ГАМК-опосредованного тока этим методом, десенситизация ГАМК_A-рецепторов проявляется в виде спада тока со временем, причем для оценки десенситизации используются как значения скорости спада амплитуды тока, так и скорости спада проводимости мембраны. В настоящей работе как экспериментально, так и при помощи математического моделирования были изучены особенности исследования десенситизации ГАМК_A-рецепторов методом пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка» в режиме фиксации мембранного потенциала на нейронах префронтальной коры головного мозга крысы.

В итоге был обнаружен ряд экспериментальных проблем данного вида исследования, которые могут привести к некорректным результатам. В большинстве исследований предполагается, что при спаде ГАМК-опосредованного тока, его вольт-амперные характеристики (ВАХ) линейны, даже в случае низкой внутриклеточной и высокой внеклеточной концентраций ионов хлора. Однако, согласно современным теоретическим представлениям о транспорте ионов через мембрану, в этих условиях ВАХ ГАМК-опосредованного тока должна иметь наружное выпрямление, при котором, в условиях равной движущей силы, выходящий ток всегда больше входящего. Описание ВАХ с помощью линейного уравнения (закон Ома) позволяют получить значения проводимости мембраны. В нашем исследовании мы применили уравнение потока Гольдмана-Ходжкина-Катца (ГХК) для описания ВАХ ГАМК-опосредованных ответов, что позволило оценить изменения проницаемости мембраны для ионов хлора.

Нами было выявлено, что ВАХ ГАМК-опосредованных токов с наружным выпрямлением вырождаются в прямые за счет влияния на их форму последовательного сопротивления, которое представляет собой сумму сопротивлений пэтч-пипетки и контакта пэтч-пипетки с клеткой и имеет линейную ВАХ. Это влияние в основном выражено в случае высокоамплитудных ответов, тогда как у низкоамплитудных токов ВАХ соответствуют уравнению потока ГХК. При высокой проводимости мембраны в ходе воздействия ГАМК, последовательное сопротивление является основной характеристикой, определяющей форму ВАХ, превращая ее в прямую. Таким образом, в условиях асимметрии внутриклеточной концентрации ионов хлора, использование линейных ВАХ и, следовательно, значений проводимости мембраны для оценки десенситизации ГАМК_A-рецепторов является некорректным, так как данные ВАХ в большей мере отражают проводимость не ГАМК_A-рецепторов, а величину последовательного сопротивления.

Ранее во многих исследованиях указывалось на непостоянство внутриклеточного ионного содержимого при протекании больших токов через мембрану в ходе пэтч-кламп эксперимента. В настоящем исследовании было показано, что при непостоянстве внутриклеточной концентрации ионов хлора, скорости спада амплитуды, проводимости и проницаемости мембраны для ионов хлора в ходе продолжительного ГАМК-ответа не соответствуют друг другу. Скорости спада проводимости и амплитуды тока искажаются при изменении внутриклеточной концентрации ионов хлора, в отличие от скорости спада проницаемости мембраны для ионов хлора, что позволяет более точно описать десенситизацию ГАМК_A-рецепторов. Указанные особенности применения метода пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка» могут иметь важное значение для корректной интерпретации результатов исследований десенситизации ГАМК_A-рецепторов.

ТРАВМАТИЧЕСКОЕ И ГИПОКСИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МОЗГА У ДЕТЕЙ: АУТОИММУННЫЙ ОТВЕТ

*Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Карасева О.В., Глоба О.В. Хмельницкий К.Е., Реутов В.П.,
Рошаль Л.М., Пинелис В.Г.*

ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России, Москва, Россия

ФГБУН НИИ неотложной детской хирургии и травматологии ДЗ, Москва, Россия

Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Активация аутоиммунного процесса после судорожного припадка и черепно-мозговой травмы (ЧМТ) происходит вследствие развития гипоксии, воспаления, повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и выброса в кровь через поврежденный ГЭБ различных структурных компонентов нервных и глиальных клеток. Увеличение содержания в крови фрагментов функционально значимых рецепторов мозга и аутоантител (аАТ) к различным мишеням мозга в посттравматическом периоде ЧМТ, прежде всего, свидетельствует о повреждении «забарьерных» антигенных структур, которые в значительной степени представлены различными мембранными рецепторами нейрофункциональных белков.

Проведенные нами предварительные экспериментальные исследования показали, что крысы линии Крушинского-Молодкиной (КМ), предрасположенные к судорожной активности, имеют повышенный уровень NO в тканях и в ответ на судорожный припадок дают повышение содержания аАТ к AMPA-типу GluRcs. Установлено, что пептидный препарат кортексин снижает продукцию NO в ткани мозга и при этом способствует снижению уровня аАТ в крови. Следовательно, можно было предположить, что в стимуляции продукции аАТ к GluRcs NO играет существенную роль.

У детей с судорожными синдромами было показано, что повышение в сыворотке крови уровня аАТ к AMPA(GluR1) типу GluRc сопровождается существенным увеличением содержания cGMP. Поскольку уровень cGMP может отражать концентрацию NO, то это означает, что судорожная активность сопровождается возрастанием концентрации NO. У детей, перенесших ЧМТ различной степени тяжести, в сыворотке крови наблюдался рост содержания аАТ к NMDA и AMPA GluRcs в первые 15 дней после травмы. Определение суммарного содержания нитритов и нитратов (NOx) в сыворотке крови детей с ЧМТ показало, что у 46% детей с легкой ЧМТ (ЛЧМТ) среднее содержание продуктов NO в плазме превышало верхние границы нормы, Среднее содержание NOx при ЛЧМТ составляло $18,42 \pm 1,77$ мкМ, при среднетяжелой ЧМТ (СТЧМТ) – $31,59 \pm 7,17$ мкМ (при норме $16,0 \pm 5,0$ мкМ). 25% детей при легкой травме головы имели повышенный уровень 3-NT уже в первые сутки после травмы ($12 - 165$ нМ). При СТЧМТ уровень 3-NT достигал $574,0$ нМ при том, что в норме этот маркер в крови отсутствует. У детей с тяжелой ЧМТ уровень метаболитов NO в сыворотке крови в десятки раз превышал как их контрольный уровень, так и их содержание при легкой ЧМТ. Наиболее высокий уровень продуктов метаболизма NO отмечался у детей с летальным исходом ЧМТ. При этом именно в случаях летальных исходов тяжелой ЧМТ уровень аАТ к NMDA рецепторам Glu сразу после ЧМТ (1-2й день) был наиболее низким. Таким образом, чем более тяжелую ЧМТ перенесли пациенты, тем более высокий уровень продуктов NO в 1–2-й дни после травмы сопровождал сниженный аутоиммунный ответ в отношении NMDA рецепторов глутамата. Полученные данные о взаимосвязи уровня аАТ к

рецепторам возбуждающего медиатора Glu, продуктов превращения NO и тяжести ЧМТ в дальнейшем могут способствовать развитию новых подходов к терапии последствий ЧМТ.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (грант № 17-15-0148717) и Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант № 18-015-00450).

ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ МЕЛАНКОРТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ОРГАНИЗАЦИЮ ЦИКЛА БОДРСТВОВАНИЕ-СОН У КРЫС

Станкова Е.П., Романова И.В.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия*

В аркуатном ядре гипоталамуса находятся нейроны, экспрессирующие проопиомеланокортин (POMC) – прекурсор меланокортиновых пептидов, одним из которых является α -меланоцит стимулирующего гормона (α -MSH) – ключевой фактор регуляции энергетического обмена организма. В головном мозге α -MSH свое действие оказывают через меланокортиновые рецепторы 3-го и 4-го типов (MC-3 и MC-4), нарушение работы которых связано с различными метаболическими расстройствами, в частности ожирением.

Показано, что POMC-иммунопозитивные отростки, MC-3 и MC-4 выявляются в преоптической области гипоталамуса, структуры которой регулируют циркадные ритмы организма. Однако роль меланокортиновой системы в координировании сна и бодрствования мало изучена. В связи с этим целью нашей работы стало исследование влияния блокады MC-3 и MC-4 на организацию цикла бодрствование-сон (ЦБС) у крыс.

Эксперимент проведён на пяти половозрелых самцах крысы линии Wistar (250-300 г). Для регистрации локальной электрической активности мозга животным наркотизировали хлоралгидратом (400 мг/кг) и по координатам стереотаксического атласа (Paxinos G., 1998) вживляли электроды в область гиппокампа (AP = -4, L = 2, DP = 3.5 мм от Брегмы, правое полушарие), соматосенсорной коры (AP = -1, L = 3, DP = 2 мм от Брегмы, правое полушарие) и зрительной коры (AP = -7, L = 4, DP = 2 мм от Брегмы, в оба полушария). После операции, восстановительного периода (7 дней) и адаптации животных к условиям эксперимента на каждой крысе были выполнены две шестичасовые записи электрической активности мозга с интервалом в три дня. Первая (фоновая) запись была выполнена через 45 минут после внутрибрюшинного введения 0.5 мл физиологического раствора. За 45 минут до начала второй записи животному внутрибрюшинно вводили 0.5 мл неселективного блокатора MC-3/MC-4 SHU-9119 (Tocris, США) в дозировке 200 мкг/кг. На основании анализа записи электрической активности мозга (Gotiesmann S., 1992) выделяли: бодрствование, первую стадию медленноволнового сна, вторую стадию медленноволнового сна, переходную стадию и быстроволновый сон (БС). Оценивали суммарную продолжительность каждой из фаз цикла ЦБС за 6 часов записи. Анализ достоверности различий проводился с использованием Т-критерия Вилкоксона.

Результаты эксперимента демонстрируют, что после введения блокатора в первые три часа регистрации у крыс продолжительность быстроволнового сна снижалась от 14.9 мин (фон) до 4.8 мин ($p < 0.05$). Достоверных различий в продолжительности других фаз ЦБС выявлено не было. С 3-го по 6-й час записи продолжительность БС после введения SHU-9119 уже не отличалась от фона. Данный феномен может быть связан с тем, что через 3 ч записи,

т.е. через 3 ч 45 мин после введения блокатора, эффект препарата ослабевает и восстанавливается нормальное функционирование сон-регулирующих систем мозга.

Таким образом, проведенное исследование показало, что фармакологическая блокада МС-3/МС-4 вызывает временное снижение продолжительности быстрого сна, что свидетельствует об участии меланокортиновой системы в регуляции ЦСБ. Полученные данные подтверждают предположение о взаимосвязи энергетического статуса организма с организацией сна.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОПЕРЕЖАЮЩЕГО ОТРАЖЕНИЯ ДЕЙСТВИТЕЛЬНОСТИ

Судаков С.К.

НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина

В аппарате предвидения будущего результата (акцептор результата действия) можно выделить два компонента. Первый компонент, информационный, оценивает параметры достигнутого результата. Это классический акцептор результата действия необходимый для построения гармонического поведения и избегания ошибки. Он состоит в постоянном сличении результатов сделанного с ранее предсказанными афферентными параметрами результатов. Т.е. в этом компоненте на основании индивидуального опыта и генетической информации формируются информационные памятные следы о будущем результате.

Второй компонент – опережающее подкрепление. Оно формируется также на основании генетического и индивидуально-приобретенного опыта (памяти индивидуума) о биологической или социальной значимости будущего результата, а также о вероятности его достижения в данных условиях. Если вероятность достижения результата более 50%, будет возникать опережающее положительное подкрепление, если вероятность меньше 50% - опережающее отрицательное подкрепление, состояние тревожности.

Рассматриваются нейрофизиологические и нейрохимические механизмы информационного компонента, опережающего положительного и отрицательного подкрепления, а также возможные механизмы оценки вероятности достижения результата.

ЭНДОГЕННАЯ ОПИОИДНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ПОСЛЕ ПЕРИОДИЧЕСКОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ РАСТВОРОВ ГЛЮКОЗЫ, ХЛОРИДА НАТРИЯ И ГЛЮТАМАТА НАТРИЯ

Судаков С.К., Богданова Н.Г., Алексеева Е.В., Назарова Г.А.

НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина, Россия, Москва

Человек и животные имеют вкусовые рецепторы, воспринимающие пять типов вкуса: горький, кислый, соленый, сладкий и вкус умами. Соленый, сладкий и вкус умами в определенных пределах воспринимаются, как приятные. Хорошо известно, что употребление веществ, имеющих приятный вкус, вызывает положительные эмоциональные ощущения. Это приводит к активации механизмов положительного подкрепления, а стимуляция системы положительного подкрепления может приводить к формированию психологической и

физической зависимости, связанной в частности, с существенными изменениями в эндогенной опиоидной системе. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение возможности формирования эндогенной опиоидной зависимости при периодическом употреблении растворов глюкозы, хлорида натрия и глутамата натрия.

Эксперименты выполнены на крысах линии Вистар, самцах. Вода в одной из двух поилок у крыс всех экспериментальных групп была постоянно в доступе. У животных контрольной группы вода находилась в обеих поилках. В опытных группах, начиная с 4 часов после наступления темной фазы, животным во второй поилке предоставляли 1390 мМ растворы глюкозы, 30 мМ, 60 мМ и 120 мМ раствора хлорида натрия или 30 мМ, 60 мМ или 120 мМ раствора глутамата натрия на 12 часов в день. Остальные 12 часов все крысы были лишены корма и жидкости во второй поилке. Такой режим потребления растворов осуществляли в течение 8 дней. На 9 день после обычного 12-часового лишения корма животным внутрибрюшинно вводили по 20 мг/кг налоксона. Через 15 минут крыс помещали индивидуально на 20 минут в круглое, наклонное «открытое поле», где регистрировали поведенческие признаки синдрома отмены – изменения двигательной активности, стойки, наличие скрежета зубами, встряхивания головой, лапами и отряхивания «мокрой собаки».

В результате проведенных экспериментов было показано, что крысы предпочитали все предложенные растворы воде. Наибольшим предпочтением пользовались растворы глюкозы и хлорида натрия. Именно у этих животных наблюдалось наибольшее количество признаков синдрома отмены, что свидетельствует о формировании у них физической зависимости, схожей с опиатной. Потребление растворов глутамата натрия также приводило к формированию зависимости. Однако если учесть, что предпочтение растворов глутамата натрия было существенно ниже, чем изомолярных растворов хлорида натрия, можно думать, что зависимость связана с наличием в молекуле иона натрия (соленый вкус), а не глутамата (вкус умами).

В другом эксперименте крысы употребляли по вышеизложенной схеме растворы глутамата натрия или глюкозы в течение 28 дней. Затем в течение трех последующих дней крыс лишали доступа к растворам глутамата или глюкозы. На следующий день доступ ко всем растворам возобновляли. Оказалось, что при этом животные начинали потреблять существенно большее количество растворов глутамата натрия, чем перед лишением доступа к нему. Потребление раствора глюкозы после периода отмены практически не изменялось.

Результаты экспериментов свидетельствуют о возможном формировании физической опиатоподобной зависимости от употребления сладких и соленых продуктов. Регулярное, периодическое употребление продуктов со вкусом умами может приводить к формированию психологической, но не физической зависимости.

РЕАКЦИЯ ЭЭГ-ПАТТЕРНА СТУДЕНТОВ УЗБЕКСКОЙ НАЦИОНАЛЬНОСТИ ПРИ ПРОСЛУШИВАНИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНО ОРИЕНТИРОВАННОГО ТЕКСТА НА РОДНОМ ЯЗЫКЕ И ЯЗЫКЕ ОБУЧЕНИЯ

Ульянова Е.А., Слюсаренко А.А., Залата О.А.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Медицинская Академия им. С.И. Георгиевского, Симферополь, Россия

К сложным сенсорным сигналам для восприятия у человека относят речевые, особенно если их предъявление сочетается сменой одного языка на другой.

Тестировали 5 студентов-добровольцев узбекской национальности мужского пола, 18 – 20 лет. Все испытуемые были правшами, не имели отклонений в состоянии здоровья, подписали предварительное письменное информированное согласие на участие в обследовании. Регистрация ЭЭГ осуществлялась с помощью компьютеризированного электроэнцефалографического комплекса «Тредекс». ЭЭГ-потенциалы отводили монополярно от 16 локусов по системе «10 – 20». Запись ЭЭГ проводилась в положении сидя в затемненной и звукоизолированной комнате по схеме: последовательно в течение 60 с записывали текущую ЭЭГ (глаза закрыты/открыты), затем при прослушивании профессионально ориентированного текста (алгоритм постановки пациенту сифонной клизмы), записанного на узбекском и русском языках. Длительность каждого текстового фрагмента составляла 171 с и отделялась от следующего 60 с паузы. Запись предъявлялась в наушники симметрично в левое и правое ухо. Оценивали реакцию ЭЭГ показателей во всех функциональных пробах, динамику коэффициента межполушарной асимметрии (кМПА). С помощью психологического тестирования оценили психоэмоциональное состояние (опросники Спилбергера-Ханина; САН), определили тип личности респондентов (тест Айзенка).

Результаты психологического тестирования личности студентов выявили, что они относились к экстравертам ($15,8 \pm 2,1$) с умеренно выраженным нейротизмом ($14,8 \pm 1,9$). Уровни их личностной (ЛП – $38,8 \pm 5,4$) и ситуационной тревожности (СТ – $31,2 \pm 1,7$) были умеренными, а при повторной оценке уровень СТ стал низким ($26,2 \pm 4,7$). Динамика показателей теста САН заключалась в увеличении активности ($p=0,02$), самочувствия и настроения ($p>0,05$) после завершения речевого теста по сравнению с результатами оценки психоэмоционального состояния респондентов до начала обследования. Во время регистрации проб ЭЭГ установили поступательное снижение кМПА α -ритма больше при прослушивании текста на узбекском языке ($p=0,04$), чем на русском ($p=0,05$). Реакция ЭЭГ-паттерна при прослушивании студентами текста на родном языке заключалась в снижении доли низкочастотных δ -, θ - ($p>0,05$), а также высокочастотного β_1 -ритма ($p>0,05$), при этом значительно повысился вклад в картину α - ($p=0,02$) и незначительно β_2 - ритма ($p>0,05$). Изменения показателей ЭЭГ при прослушивании студентами текста на языке обучения имели особенности: при увеличенном вкладе α -ритма ($p=0,04$) отметили некоторое усиление в картине паттерна θ -ритма ($p>0,05$).

Таким образом, при регистрации ЭЭГ-активности у студентов узбекской национальности по время прослушивании идентичного профессионально ориентированного

текста, записанного на родном языке и языке обучения, удалось выявить особенности ЭЭГ-паттерна, которые заключались в увеличении вклада в общую картину ЭЭГ-активности α -ритма при восприятии речевых сигналов в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами. Полученные результаты соотносятся с литературными данными, когда повышение амплитуды α -ритма связывают с активацией «внутреннего» внимания и усиления тормозных процессов, необходимых для обеспечения организованных мыслительных операций (Anokhin A., Vogel F., 2007).

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ И НЕЙРОЭНДОКРИННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ РАЗЛИЧНОЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПОВЕДЕНИЯ В ТЕСТЕ УРПИ: ОЦЕНКА С ПОЗИЦИЙ ТЕОРИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СИСТЕМ

Умрюхин А.Е.

*ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский
Университет), Москва, Россия*

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

В соответствии с теорией функциональных систем П.К. Анохина, развитой в научной школе К.В. Судакова, ведущим фактором системной организации поведения выступает формирование и удовлетворение потребности организма. Интерпретация результатов поведения животных в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ) требует учёта результативности поведения. Можно сделать вывод о различных стратегиях результативного поведения животных в тесте УРПИ, о которых может свидетельствовать удлинение латентного периода захода в темный отсек при втором тестировании. При этом пассивная поведенческая стратегия достижения результата по избеганию аверсивного раздражителя сочетается с неизменным уровнем норадреналина в дорсальном гиппокампе во время часовой иммобилизационной стрессорной нагрузки и после ее окончания и с неизменным уровнем кортикостерона в крови после стрессорного воздействия. Активная поведенческая стратегия избегания аверсивного раздражителя сопровождается ростом содержания норадреналина в дорсальном гиппокампе во время часовой иммобилизационной стрессорной нагрузки и после ее окончания и увеличением уровня кортикостерона в крови после стрессорного воздействия.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ И ВОЗОБНОВЛЯЮЩЕЙСЯ ГИПОГЛИКЕМИЕЙ

Фатеев М.М., Телушкин П.К., Медведева Н.Б.

Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия

Исследовали вариабельность сердечного ритма (ВСР) в процессе развития гипогликемической комы (ГТК) и после купирования ее глюкозой у здоровых крыс (1 серия), крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом (2 серия) и у крыс, перенесших серию ГТК (3 серия). Регистрация ЭКГ осуществлялась во II стандартном отведении в течение 4-х

минут до и через 15, 60, 90 и 120 минут (кома) после введения инсулина (40 ЕД/кг), а также через 15 и 60 минут после введения глюкозы (3 мл 40 % раствора внутривенно) крысам, находящимся в состоянии ГГК. При возобновляющейся гипогликемии животные перенесли серию из 8 ГГК с интервалом в 2 дня. В ходе развития последней комы и после ее купирования регистрацию ЭКГ повторяли по той же схеме. Определяли показатели временного, геометрического и спектрального анализов ВСР и показатель суммарной степени воздействия на сердечный ритм – ССВ (Фатеев М.М. с соавт. Рос. физиол. журн. № 2, 2018), характеризующий преобладание в сердечном ритме пара- или симпатического отдела автономной нервной системы (АНС).

Исходная частота сердечных сокращений (ЧСС) составляла у крыс 1-ой серии 464 ± 4.0 , 2-ой серии – 446 ± 15 и 3-ей серии – 481 ± 5 уд/мин. После введения инсулина она начинала уменьшаться и в состоянии ГГК снижалась до 275 ± 8.0 , 288 ± 23.5 и 331 ± 9 уд/мин ($p < 0.001$) соответственно. После введения глюкозы ЧСС начинала восстанавливаться и через 1 час составляла 388 ± 7.8 , 367 ± 19.8 и 423 ± 10 уд/мин соответственно, во всех сериях оставаясь меньше исходного уровня ($p < 0.01$). В 3-й серии экспериментов у этих же крыс, перенесших серию ГГК, исходная ЧСС составляла 490 ± 9 уд/мин, после введения инсулина она также начала снижаться и в состоянии ГГК составила 316 ± 18 уд/мин ($p < 0.001$), а последующее купирование ГГК глюкозой привело к увеличению ЧСС через час до 406 ± 11 уд/мин, но она также не достигала исходного уровня ($p < 0.001$). Изменения и других показателей временного и геометрического анализов показали, что во всех сериях опытов у животных в состоянии ГГК происходит резкое увеличение тонуса парасимпатического отдела АНС и относительно небольшое – симпатoadреналовой системы. Через час после введения глюкозы не происходит полного восстановления всех показателей ВСР. В 1-ой серии опытов уже через 15 минут после введения инсулина ССВ достоверно повысился и достиг максимальных значений (2.19 ± 0.87) в состоянии ГГК, а через час после купирования ее глюкозой он составлял 0.01 ± 0.076 и не отличался от исходного уровня ($p > 0.05$). Повышение ССВ выше нулевого значения свидетельствует о преобладании тонуса парасимпатического отдела АНС над активностью симпатoadреналовой системы, что и наблюдалось в наших экспериментах. Во всех сериях опытов изменения показателей ВСР в ходе экспериментов имеет общую динамику: гипогликемия стимулирует активность обоих отделов АНС с существенным преобладанием тонуса ее парасимпатического отдела. У животных 2-ой и 3-ей экспериментальных групп изменения имели сходный характер, но были менее выражены и развивались при большем снижении уровня глюкозы в крови. Аллоксан оказывает прямое повреждающее действие на глюкозочувствительные нейроны гипоталамуса и заднего ядра блуждающего нерва. Сходный характер изменений тонуса парасимпатического отдела у животных с аллоксановым диабетом и возобновляющейся гипогликемией может быть свидетельством угнетения глюкозочувствительных систем мозга при возобновляющейся гипогликемии.

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, ДЫХАНИЯ И БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С МИГРЕНЬЮ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

Цагашек А.В., Сорокина Н.Д., Селицкий Г.В., Жердева А.С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Введение. Мигрень и эпилепсия относят к коморбидным заболеваниям, имеющим схожие клинические признаки – наличие пароксизмов, гипервозбудимость нейронов головного мозга, эпилептиформная активность в ЭЭГ. Частота мигрени у пациентов с эпилепсией достигает 26% (Азимова, 2009). Вероятность развития мигрени вследствие эпилепсии повышается в 2,4 раза, в то же время, мигрень увеличивает вероятность возникновения эпилепсии в 4,1 раза (Silberstein S.D., 2002). Мигренозные или мигрениподобные головные боли (ГБ) чаще выявляются при эпилепсии, чем другие виды ГБ. По определению мигрень – пароксизмальное состояние, проявляющееся приступами пульсирующей ГБ, чаще в одной гемисфере, преимущественно в лобно-височно-глазничной области. Приступ обычно сопровождается тошнотой, рвотой, фото- и фонофобией, яркими симптомами со стороны автономной нервной системы, а после прекращения пароксизма – сонливостью, вялостью и астенизацией (Селицкий Г.В., Стулин И.Д., Сорокина Н.Д. и др., 2015).

Цель исследования – оценка динамики показателей биоэлектрической активности головного мозга в соотношении с адаптивными реакциями тонуса автономной нервной системы (индексы вариабельности сердечного ритма (ВСР), функциями внешнего дыхания (ФВД) у пациентов с мигренью и эпилепсией).

Материалы и методы. Исследованы пациенты с эпилептическим очагом в левом (1-я гр., 27 чел.) или в правом (2-я гр., 29 чел.) полушарии головного мозга, с мигренозными атаками перед эпилептическими припадками, с использованием регистрации электроэнцефалограммы (ЭЭГ) и программ картирования ЭЭГ, определением индексов вариабельности сердечного ритма и показателей внешнего дыхания (прибор Спиро-Спектр Нейрософт). Показатели регистрировали в фоне, после гипервентиляции и сразу после клино- и ортостатической пробы.

Результаты. Испытуемые 1-й гр. характеризовались преобладанием нормотимического и парасимпатического тонуса регуляции сердечного ритма (СР), а испытуемые 2-й гр. – достоверным преобладанием симпатического типа регуляции СР. Показатели ФВД характеризовались более выраженным увеличением показателей после гипервентиляции (ЧД, энергозатрат, снижения CO_2) во 2-й гр., чем в 1-й. Анализ спектрально-корреляционных показателей ЭЭГ выявил более высокую генерализацию эпилептиформной активности в 1-й группе, чем во 2-й, что свидетельствовало о более выраженном эпилептогенезе этой группы. В 1-й гр. по всем тестам отмечалось преобладание болевого синдрома по интенсивности по сравнению со 2-й гр. Во 2-й группе, напротив, обнаружили более выраженную депрессию и тревожность, эмоциональные нарушения, чем в 1-й группе.

Заключение. Более тесная связь правого полушария с лимбической системой, видимо, определяет у пациентов с эпилептической активностью в правом полушарии и мигренью более

выраженные (достоверные) изменения регуляции автономной нервной системы, что проявляется в повышении симпатического влияния на ВСР. У пациентов 2-й группы выявлены более выраженные эмоциональные нарушения, что также подтверждает связь латерализации эпилептического очага и мигренозных атак с лимбико-ретикулярным комплексом. Повышенная активность симпатической нервной системы коррелировала с изменениями внешнего дыхания. Нейрофизиологические показатели эпилептогенеза выявляли более высокую генерализацию эпилептиформной активности у пациентов 1-й группы и преобладание парасимпатической системы в регуляции сердечного ритма и дыхания, что свидетельствует о вовлечении механизмов адаптации при вторично-генерализованных приступах и выраженном болевом синдроме при мигрени у пациентов этой группы.

ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ПРОЯВЛЕНИЯ ПРАЙМИНГ-ЭФФЕКТА ПРИ ГЕТЕРОСЕНСОРНОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ У ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Черенкова Л. В., Соколова Л. В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Цель проводимого исследования состояла в выявлении возрастной динамики формирования процессов гетеросенсорного взаимодействия у детей дошкольного возраста.

С помощью прайминг-парадигмы исследовали влияние предваряющего предъявления конгруентных или неконгруентных зрительных изображений на скорость и точность распознавания тестовых звуков в зависимости от интервала между тестовым и прайм-стимулами (0 – 500 мс).

Полученные результаты позволили установить, что у детей в возрасте 4-х лет это влияние достоверно проявляется при использовании только конгруентных сочетаний стимулов. Введение неконгруентных сочетаний приводит к достоверному снижению скорости реакции на тестовые звуки, сочетаемые как с конгруентными, так и неконгруентными изображениями при всех исследованных межстимульных интервалах. В возрасте 5-ти лет уменьшение времени различения тестовых звуков при их сочетании с конгруентными изображениями по сравнению с неконгруентными было выявлено при задержках между тестовым и прайм-стимулом только в интервале от 150 до 500 мс. Анализ изменения точности реакций при введении неконгруентных сочетаний звуков и изображений показал, что у детей 5-ти лет возрастает число ошибок только на неконгруентные сочетания, в то время как у детей 4-х лет снижается точность реакции на звуки, предваряемые как конгруентными, так и неконгруентными изображениями. Подобная картина взаимодействия звуковой и зрительной стимуляции свидетельствует о незрелости механизмов межсенсорной интеграции в данной возрастной группе, что и приводит к отсутствию сдвига внимания к значимым признакам сочетаемых объектов. В возрасте 6-ти лет эффект облегчения реакции на конгруентное сочетание стимулов отмечается как в ранних (50 – 100 мс), так и в поздних (200 – 500 мс) интервал задержки между тестовым и прайм-стимулами, что говорит о более зрелом взаимодействии гетеросенсорной информации, формирующем интегральный межсенсорный образ. Это, в свою очередь, позволяет ребенку успешно концентрировать внимание на

значимых (звуковых) признаках гетеросенсорных объектов, о чем свидетельствует высокая точность выполнения задания.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 17-06-00644, проект № 16-06-00345.

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ СТРЕССОРНОЙ НАГРУЗКИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Чехлов В.В.¹, Абрамова А.Ю.1.², Козлов А.Ю.^{1,2}, Коплик Е.В.², Перцов С.С.^{1,2}

¹ – ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, Россия, Москва

² – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина», Россия, Москва

Одной из наиболее серьезных дисфункций, возникающих при стрессорных нагрузках, является нарушение иммунного статуса организма. Особое внимание в этом плане уделяется цитокинам – полипептидным медиаторам межклеточных взаимодействий, обладающим выраженной иммуномодулирующей активностью. Имеются доказательства того, что иммунные расстройства, наблюдающиеся в ответ на стрессорные воздействия, во многом определяют характер последующих нарушений физиологических функций.

Целью наших исследований явилось изучение характера изменений уровня цитокинов в сыворотке периферической крови при повторных стрессорных нагрузках у крыс с разной индивидуальной чувствительностью к отрицательным эмоциогенным воздействиям.

Опыты поставлены на 40 поведенчески пассивных и 36 активных в тесте «открытое поле» крысах, отличающихся соответственно низкой и высокой устойчивостью к развитию постстрессорных расстройств. В качестве модели хронической стрессорной нагрузки использована ежедневная 4-ч иммобилизация животных в индивидуальных пластиковых пеналах в течение 8 суток. Цитокиновый профиль сыворотки крови определяли методом мультиплексного иммунного анализа на установке Bio-Plex (*Bio-Rad Laboratories, USA, CA*). Содержание цитокинов измеряли у контрольных крыс, а также у стрессированных особей – на 1-е, 3-и и 8-е сутки ежедневной 4-ч иммобилизации.

Установлено, что концентрация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 α и ИФН- γ в периферической крови крыс с разными параметрами поведения изменяется незначительно в динамике многократных стрессорных нагрузок. Повторные стрессорные воздействия сопровождалась прогрессивным снижением уровня ИЛ-2 и ИЛ-5 в сыворотке крови поведенчески пассивных крыс, наиболее выраженным к 8-м суткам исследования. Активные особи характеризовались лишь тенденцией к уменьшению содержания ИЛ-2, но значимым снижением концентрации ИЛ-5 в крови на 3-и и 8-е сутки иммобилизационного стресса. Концентрация ИЛ-1 β и ИЛ-6 в крови крыс практически не изменялась при однократной иммобилизации, но, прогрессивно увеличиваясь в динамике последующих стрессорных воздействий, достигала максимального значения на 8-е сутки ежедневных иммобилизаций.

Животные с разными поведенческими показателями характеризовались практически неизменным уровнем противовоспалительного цитокина ИЛ-4, но повышением содержания ИЛ-10 в периферической крови в условиях повторных стрессорных нагрузок. Указанные

изменения у пассивных особей были наиболее выражены на 8-е сутки, а у активных животных – на 3-и и 8-е сутки иммобилизационного стресса.

Следовательно, направленность стресс-индуцированных изменений уровня цитокинов в крови крыс зависит от их индивидуальной прогностической устойчивости к негативным последствиям экстремальных воздействий, а также от частоты предъявления стрессогенного фактора. В отличие от устойчивых к стрессу животных, предрасположенные особи характеризуются изменением содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов после однократной стрессорной нагрузки. Изменения цитокинового профиля крови к 8-м суткам повторных иммобилизаций более выражены, чем на 1-е и 3-и сутки исследования. Колебания концентрации цитокинов в сыворотке периферической крови при многократных стрессорных воздействиях более значимы у предрасположенных к стрессу крыс, чем у устойчивых животных.

Представленные данные иллюстрируют особенности вовлечения иммуномодулирующих цитокинов в реализацию системных реакций организма на разных стадиях хронической стрессорной нагрузки у особей с разной индивидуальной чувствительностью к стрессу.

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ НЕРВНЫХ АППАРАТОВ, ЭПИКАРДА И РАЗВИВАЮЩИХСЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ В СТЕНКЕ СЕРДЦА КРЫСЫ В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Чумасов Е.И.^{1,2}, Петрова Е.С.¹, Коржевский Д.Э.¹

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

² – Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Россия

Известно, что проэпикард (ПЭ) в эмбриональный период служит источником прогениторных клеток, участвующих в ангиогенезе кровеносных сосудов миокарда, а в постнатальном онтогенезе из него формируется дефинитивный эпикард. Из клеток-предшественников ПЭ образуются различные типы клеток: эндотелиальные, перициты, гладкомышечные и интермиокардиальные фибробласты. Судьба клеток, производных эпикарда, в ранний постнатальный период и их роль в гистогенезе тканей сердца крысы и человека до сих пор остаются недостаточно выясненными. Целью настоящей работы явилось изучение особенностей строения эпикарда, развивающихся кровеносных сосудов и нервных структур в стенке сердца крысы в ранний постнатальный период. Работа выполнена на крысах Вистар разного возраста: первого (P1), четырнадцатого (P14), тридцатого (P30) дней постнатального развития и трехмесячных крысах (n=16). Во всех экспериментах соблюдали международные правила Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными и «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ №775 от 12.08.1977 МЗ СССР). Фиксация сердца и околосердечной области крыс осуществлялась в растворе цинк-этанол-формальдегида по методу Д.Э. Коржевского. После соответствующей обработки гистологический материал заливали в парафин. Для выявления нервных аппаратов сердца использовали антитела к белку PGP 9,5; для визуализации гладкомышечных клеток применяли иммуногистохимическую реакцию на альфа-актин, для эндотелиоцитов – реакцию на фактор Виллебранда, для кардиомиоцитов – реакцию на актин саркомерный. Часть препаратов докрашивали толуидиновым синим.

Показано, что у новорожденной крысы в субэпикардальном слое в период васкулогенеза формируется нервное сплетение, которое состоит из пучков безмиелиновых парасимпатических аксонов. Аксоны сплетения находятся в тесных взаимоотношениях с одной стороны с эпителием эпикарда, а с другой – с эндотелием новообразующихся венозных сосудов с широкими просветами. Установлено, что эпителиальные клетки эпикарда на ранних стадиях развития временно экспрессируют белок 9.5. Через 2 – 4 недели после рождения эпителий эпикарда утрачивает свою PGP 9.5-иммунореактивность, субэпикардальный слой редуцируется, и через 3 мес устанавливаются характерные для зрелого эпикарда взаимоотношения между нервным сплетением, подлежащей соединительной тканью и миокардом сердца. В работе определен клеточный состав субэпикардального слоя. Показано, что из прогениторных клеток образуются гладкомышечные, эндотелиальные и переходные клеточные элементы миофибробластического ряда. Установлено, что развивающийся эпикард служит источником не только системы венозных синусоидных капилляров, но и артериальных сосудов, которые, объединяясь с коронарными, дают начало развитию общего микроциркуляторного русла сердца. Предполагается, что впервые описанное в субэпикардальном слое новорожденной крысы нервное сплетение, состоящее из холинергических аксонов, наряду с известными факторами роста сосудов (FGF, VEGF), может участвовать в регуляции ангиогенеза сердца.

ИЗУЧЕНИЕ ВЫЗВАННОЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА МЫШИ ПРИ СИНДРОМЕ РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

*Шайдуллов И.Ф., Шафигуллин М.У., Сорокина Д.М., Ситдииков Ф.Г., Ситдикова Г.Ф.
Казанский федеральный университет, Казань, Россия*

Синдром раздраженного кишечника (СРК) является хроническим или рецидивирующим функциональным желудочно-кишечным расстройством, с характерной болью в животе и дискомфортом, в отсутствие каких-либо структурных или биохимических нарушений желудочно-кишечного тракта. СРК – многофакторное заболевание с характерными изменениями висцеральной чувствительности и висцеральной болью, определяемой как неприятное ощущение, которое в отличие от соматической боли является диффузной и трудно локализованной. Целью нашего исследования был анализ изменений вызванной карбахолином сократительной активности толстой кишки мыши при моделировании СРК. В экспериментах регистрировали сокращения сегментов толстой кишки мыши контрольной и СРК- групп длиной 5 мм в изометрических условиях (Віорас, США). В течение всего эксперимента препарат омывался аэрированным раствором Кребса при $t=37^{\circ}\text{C}$.

Добавление карбахолина, агониста мускариновых рецепторов, в концентрации 1 мкМ в течение минуты вызывала длительное сокращение сегмента кишки, средняя амплитуда которых у контрольной и СРК-групп 1.88 ± 0.24 и 1.28 ± 0.17 грамм соответственно. При этом площадь под кривой вызванного сокращения у СРК-группы мышцей составила $57.09\pm 4.2\%$ ($n=10$, $p<0,05$) от уровня контрольной группы, где значения ППК были приняты за 100%.

Таким образом, у СРК-группы мышцей амплитуда вызванных карбахолином сокращений и ППК, была значительно ниже, чем у контрольной группы, что указывает на возможное влияние СРК на механизмы лежащие в основе работы мускариновых рецепторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-415-160005

АДИПОКИНЫ, КАК РЕГУЛЯТОРЫ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДНОЙ ОСИ

Шпаков А.О.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук,
Санкт-Петербург, Россия
alex_shpakov@list.ru*

В последние годы появились неоспоримые доказательства того, что адипокины, которые продуцируются адипоцитами жировой ткани, участвуют в регуляции функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси. Наибольшее значение для функционирования мужской и женской репродуктивных систем имеют лептин, адипонектин, апелин, висфатин и резистин. Мишенями адипокинов являются все основные звенья ГГГ оси. Они регулируют функциональную активность гипоталамических нейронов, продуцирующих гонадолиберин (GnRH), релизинг-фактор лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормонов. При этом их действие может быть направлено непосредственно на регуляцию активности GnRH-продуцирующих нейронов или быть опосредованным и включать активацию гипоталамических нейронов, продуцирующих киспептин и пептиды меланокортинового семейства, которые, в свою очередь, контролируют продукцию GnRH. Нарушение проникновения адипокинов через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и снижение их концентрации в ЦНС, а также изменение чувствительности гипоталамических нейронов к адипокинам являются одними из причин репродуктивных дисфункций. С этим связано ослабление функционирования ГГГ оси в условиях ожирения, метаболического синдрома и сахарного диабета с характерными для них периферической лептиновой и адипонектиновой резистентностью. В результате транспорт адипокинов через ГЭБ снижается, что приводит к дефициту лептина и его функционального антагониста адипонектина в гипоталамусе и ослаблению их регуляторного влияния на выработку GnRH. Подавление репродуктивных функций отмечается при длительном снижении уровня циркулирующих в крови адипокинов, что является следствием резкого уменьшения запасов жировой ткани в условиях длительного голодания и аноректического синдрома, а также при чрезмерных физических нагрузках. Адипокины также действуют на гипофизарное звено ГГГ оси – гонадотрофы, продуцирующие гонадотропины, причем они могут поступать в аденогипофиз как из кровотока, так и синтезироваться в нем *de novo*, функционируя как ауто- и паракринные факторы. При этом лептин стимулирует продукцию ЛГ гонадотрофами, повышая в них экспрессию рецептора GnRH, в то время как адипонектин оказывает на продукцию ЛГ негативное влияние. Проникая через гематотестикулярный и гематоовариальный барьеры, адипокины оказывают регуляторное влияние на семенники и яичники, контролируя синтез и секрецию ими половых стероидных гормонов, а также влияя на фолликулогенез, оогенез и сперматогенез. Показано, что в клетках Лейдига семенников и в фолликулярных клетках яичников экспрессируются рецепторные, трансдукторные и эффекторные компоненты сигнальных систем, регулируемых лептином, адипонектином и

апелином. Установление роли и мишеней действия адипокинов в регуляции функциональной активности ГГГ оси открывает широкие перспективы для создания принципиально новых препаратов для лечения заболеваний репродуктивной системы, которые ассоциированы с метаболическими расстройствами и сопровождаются изменениями уровня циркулирующих в крови адипокинов, нарушением их транспорта через гистогематические барьеры и ослаблением адипокинового сигналинга в гипоталамусе, гипофизе и гонадах.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и ДНТ (№ 18-515-45004 ИИД_а).

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРЕАНГЛИОНАРНОЙ NO-ЕРГИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ СИМПАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

*Юхманкова А.В., Вербовецкая А.И., Маслюков А.П., Спиричев А.А., Бутова Р.Е.,
Моисеев К.Ю.*

Ярославский государственный медицинский университет, Россия, Ярославль

NO играет роль универсального модулятора разнообразных функций организма, включая регуляцию деятельности внутренних органов, экспрессии генов, пластичности нервной ткани, памяти, высвобождения нейротрансмиттеров. В отличие от симпатических узлов, подавляющее большинство симпатических преанглионарных нейронов млекопитающих содержит NO-синтазу (NOS), которая при этом локализована с ферментом синтеза ацетилхолина – холинацетилтрансферазой (ХАТ) [2, 3]. Тем не менее, возрастные аспекты синаптической передачи в автономной нервной системе с участием NO остаются неясными.

Целью исследования явилось изучение локализации NO-синтазы иммуногистохимическими методами и при помощи вестерн-блоттинга в симпатических узлах в постнатальном онтогенезе.

Методы исследования. Исследованию подвергался краниальный шейный симпатический ганглий (КШГ) и звездчатый ганглий (ЗГ) крыс разного возраста (новорожденные, 10-, 20-, 30-, 60-, 180-суточные и трехлетние). Иммуногистохимическое исследование и вестерн-блоттинг осуществляли с использованием меченых антител. Эксперименты проводились с соблюдением основных биоэтических правил.

Результаты показали, что NOS в симпатических узлах не выявлялась у новорожденных крыс, а определялась лишь с 10 суток жизни иммуногистохимическим методом и при помощи вестерн-блоттинга. Плотность NOS-иммунореактивных волокон возрастала между 10 и 30 сутками жизни и оставалась постоянной в последующем. В КШГ с 10 суток жизни плотность NOS-позитивных волокон была достоверно меньшей в сравнении с ЗГ. В постнатальном онтогенезе интенсивность иммуномечения блотов также увеличивалась в диапазоне 10-30 суток и далее достоверно не изменялась.

Выводы. Полученные данные доказывают, что NO оказывает активирующее действие на синаптическую передачу в симпатических узлах крыс с 10 суток жизни. Отсутствие выраженного влияния NO на синаптическую передачу у новорожденных крыс связано с отсутствием фермента синтеза NO – NOS в этом возрасте в симпатических волокнах.

Работа поддержана РФФИ, грант 16-04-00538.

АНАЛИЗ ИНТЕНСИВНОСТИ СВЕЧЕНИЯ НЕРВНЫХ ТЕРМИНАЛЕЙ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

Яковлева О.В., Ситдикова Г.Ф.

Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ, Казань, Россия

Повышенная концентрация гомоцистеина в крови приводит к заболеванию гипергомоцистеинемии. К осложнениям данного заболевания относят поражение эндотелия сосудов и, как следствие, нарушение развития нервной системы в онтогенезе и повышение риска возникновения нейродегенеративных заболеваний в зрелом возрасте. Было показано, что у животных с пренатальной гипергомоцистеинемией наблюдается раннее взросление синапсов, выраженное в увеличении квантового состава, частоты и синхронности спонтанной секреции нейромедиатора (Хузахметова, 2016). Известно, что нервно-мышечное соединение млекопитающих формируется в первые несколько недель после рождения, проходя 3 основных стадии: вновь сформированные синапсы с простой луковичной структурой без организованных активных зон (Linden et al, 1988), постепенное формирование веточек, цитоскелета и организованных АЗ и связанное с ним увеличение спонтанное экзоцитоза нейромедиатора (Dennis, 1981), во время второй постнатальной недели появляются полностью сформированные НТ с ветвистой структурой (Sanes, 1999).

Эксперименты проводили на изолированных нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы лабораторных крыс 5 – 6, 9 – 10 и 17 – 18 дней после рождения. Для анализа процессов эндоцитоза синаптических везикул, препарат предварительно окрашивали с помощью флуоресцентного маркера FM 1-43 (Biotium, USA, 3 мкм), который присутствовал в растворе 1 мин во время стимуляции с частотой 50 Гц и 7 мин после ее окончания. Животные опытной группы были рождены от крыс, содержащихся на метиониновой диете (7 мг/кг) до и во время беременности, и в период молочного вскармливания.

В наших экспериментах мы наблюдали различные типы пресинаптических терминалей окрашенных FM 1-43. В препаратах 5 – 6 дневных крысят визуализировались отдельные однородно окрашенные синапсы, на 9 – 10 день отдельные веточки и перфорации нервных терминалей с яркими активными зонами. К 17 – 18 дням развития наблюдались разветвленные нервные окончания с несколькими активными зонами соответствующие созревшим взрослым формам синаптического контакта. Соответственно средняя площадь пресинаптических терминалей увеличивались с 5 – 6 до 17 – 18 дней и составила $67.16 \pm 4.52 \mu\text{m}^2$ (n=41) в возрасте 5 – 6 дней, $84.35 \pm 0.35 \mu\text{m}^2$ (n=75) к 10 дням, и $174.93 \pm 5.81 \mu\text{m}^2$ (n=119) у 17 – 18 дневных животных. Анализ свечения нервных терминалей показал увеличение интенсивности флуоресценции с 99.69 ± 4.53 о.е. (n=35) в 5 – 6 дней до 116.23 ± 3.25 о.е. (n=89, $p < 0.05$) в 17 – 18 дней.

У крысят с пренатальной гипергомоцистеинемией средняя площадь пресинаптических нервных терминалей была больше у 5 – 6 и 9 – 10 дневных животных по сравнению с контрольной группой ($86.05 \pm 5.62 \mu\text{m}^2$ (n=45, $p < 0.05$) и $111.13 \pm 3.05 \mu\text{m}^2$ (n=118, $p < 0.05$), соответственно). Кроме того, в течение первой и второй недель развития появились зрелые формы нервных окончаний с дискретными активными зонами. Однако у 17 – 18 дневных площадь нервных окончаний была меньше, чем у контрольных крыс ($120.81 \pm 3.56 \mu\text{m}^2$,

$p < 0,05$) с появлением незрелой формы синапсов. Интенсивность флуоресценции нервных окончаний крысят с гипергомоцистеинемией не отличалась от контрольных значений.

Полученные данные согласуются с результатами, полученными ранее с помощью специфических к пресинаптическому белку синаптофизину антител и с электрофизиологическими показателями спонтанной секреции медиатора у животных с пренатальной гипергомоцистеинемией.

Поддержано грантом РФФ 14-15-00618.

АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ РЕЦИКЛИЗАЦИИ СИНАПТИЧЕСКИХ ВЕЗИКУЛ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА У МЫШЕЙ

*Ярмиев И.З., Каримов Т.М., Ходжиева Х.А., Калигин М.С., Яковлева О.В.
Институт фундаментальной медицины и биологии, КФУ, Казань, Россия*

Сахарный диабет (СД) – это состояние, которое характеризуется тяжелыми метаболическими нарушениями всех видов обмена, и, прежде всего, углеводного обмена. Одним из серьезных осложнений при СД являются периферические нейропатии, которые характеризуются мышечной слабостью уменьшением чувствительности, параличами и атрофией мышц. Данные симптомы могут быть вызваны как нарушением на уровне спинного мозга, так и изменениями в нервно-мышечном синапсе и в мышечной ткани. Одним из патологических механизмов влияния гипергликемии на работоспособность нервной и мышечной систем является увеличение источников образования свободных радикалов, потенцирование механизма их токсического действия и изменением активности антиоксидантной системы, что ведет к повреждению тканей. Анализировали изменения показателей окислительного стресса и рециклизацию синаптических везикул при хроническом экспериментальном аллоксановом и стрептозоциновом СД.

Моделирование экспериментального СД мышам проводили с помощью аллоксана (150 – 200 мг/кг) и стрептозоцина (80 – 100 мг/кг), которые инъецировали животным внутрибрюшинно после суточного голодания (Lenzen, 2008). Эксперименты проводили на 45 сутки на животных с уровнем глюкозы не менее 9 мМ/л. С использованием парафиновых срезов поджелудочной железы окрашенных иммуногистохимически коммерческими антителами против инсулина (1:75, clone 2D11-H5, «Novocastra», UK) подтверждали развитие сахарного диабета.

С помощью флуоресцентного маркера FM 1-43 анализировали процессы экзо и эндоцитоза синаптических везикул двигательного нервного окончания. Определение концентрации восстановленного глутатиона, малонового альдегида и активности глутатион пероксидазы, производили в гомогенатах мозга и мышц задних конечностей спектрофотометрическими методами на спектрофотометре ПЭ9600 (Экрос, Россия).

При морфометрическом исследовании поджелудочной железы количество инсулин-позитивных клеток в островках составило в среднем 83%. После введения аллоксана через 1 сутки их количество уменьшилось до 65 %, после введения стрептозоцина – до 35%.

У животных с аллоксановой и стрептозоциновой моделями СД наблюдалось замедление обесцвечивания нервных терминалей, отражающее процессы экзоцитоза синаптических везикул в нервной терминали и выявлено преобладание медленного

эндоцитоза синаптических везикул над быстрым. В препаратах с стрептозоциновой моделью СД наблюдались более выраженные изменения динамики экзоцитоза синаптических везикул, чем в аллоксановой модели.

Анализ состояния антиоксидантных систем при экспериментальном СД показал снижение содержания восстановленного глутатиона, снижение активности фермента глутатион пероксидазы и достоверное увеличение концентрации мадонового альдегида в мозге и мышцах нижних конечностей мышей к 45 дню эксперимента. Причем наибольшие нарушения в балансе антиоксидантных систем наблюдались при моделировании стрептозоцинового СД, чем в аллоксановой модели.

Таким образом, у мышей с экспериментальным СД 1 типа наблюдается замедление рециклизации синаптических везикул в нервном окончании и нарушение баланса между прооксидантами и системой антиоксидантной защиты. В связи с тем, что стрептозоцин выступает как более сильный цитотоксин инсулин-позитивных клеток и способен влиять на глюкозный транспортер не только на β -клеток, но и других клеток организма, то все наблюдаемые изменения проявляются сильнее в стрептозоциновой модели СД.