

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ
ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНЫХ
И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ МОЗГА

Всероссийская конференция
с международным участием

Санкт-Петербург–Колтуши
24–26 июня 2014 года

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Санкт-Петербург
2014

Нейрохимические механизмы формирования адаптивных и патологических состояний мозга: Всероссийская конференция с международным участием (Санкт-Петербург, 24–26 июня 2014 года). Тезисы докладов. – СПб.: Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 2014. – 159 с.

Научное издание

Всероссийская конференция с международным участием

«Нейрохимические механизмы формирования
адаптивных и патологических состояний мозга»
Санкт-Петербург–Колтуши, 24–26 июня 2014 года

(Тезисы докладов)

Конференция проводится при финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-06044-г)

© Ин-т физиологии им. И. П. Павлова РАН, 2014

© Ин-т эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова РАН, 2014

© В. А. Цветкова (оформление), 2014

POLYMORPHISM OF GLUTATHIONE TRANSFERASES
IN PATIENTS WITH ALZHEIMER'S DISEASE

E. Babusikova¹, A. Evinova¹, J. Jurecekova¹, Š. Sivák², D. Dobrota¹

Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin

¹Department of Medical Biochemistry, ²Clinic of Neurology

Martin, Slovakia

Ageing is the main risk factor of neurodegenerative disorders. Although the cause or causes of Alzheimer's disease (AD) are not yet known, most experts agree that AD, like other common chronic conditions, probably develops as a result of multiple factors rather than a single cause. Alzheimer's disease is a multifactorial disease and genetic as well as environmental factors are included in disease pathology. In the last decades, several genes involved in Alzheimer's disease have been identified. Oxidative damage is one of the mechanisms which results in stimulation of the amyloid pathway of amyloid precursor protein processing therefore genes of antioxidant enzymes could present a group of candidate genes. Glutathione transferases may reduce reactive oxygen species to less reactive metabolites and protect organism against consequences of lipid peroxidation. In our study we estimated polymorphism of glutathione transferase (GST) *T1* and *M1* by polymerase chain reaction in Alzheimer's disease patients. The null genotype of glutathione transferase *T1* was similar in healthy subjects (15%) and AD patients (12%). The null genotype of glutathione transferase *M1* was more frequent among AD patients (75%) than in healthy subjects (45%). Population ages therefore neurodegenerative diseases are in a centre of interest. Several studies showed that missing antioxidant genes may have negative effect on central nervous system and may represent a risk for development of neurodegenerative diseases. Unfortunately majority of results are from animals and cell tissue studies. Molecular and genetic analyses represent a new potential for neurodegenerative diseases studying. Moreover impact of gene polymorphisms can depend on several different factors, especially for neurodegenerative diseases, such as ethnicity, social environment, life style. We need new studies for clear determination of antioxidant gene polymorphisms. Moreover multiple genotype analyses are necessary as well because a single gene polymorphism can be without relationship to increased risk of neurodegenerative disorders but the combination of gene polymorphisms may have significant effect, positive or negative.

This work was supported by grant MZ SR 2012/29-UKMA-6.

*Eva Babusikova
Department of Medical Biochemistry
Jessenius Faculty of Medicine in Martin
Comenius University in Bratislava
Martin, Slovakia*

CHANGES IN AMYLOID PRECURSOR PROTEIN PROCESSING
AND AMYLOID- β DEGRADING ENZYMES EXPRESSION
AFTER ISCHAEMIA INSULT

Eva Babusikova^{1,2}, Natalia N. Nalivaeva^{2,3}, Dusan Dobrota¹, Anthony J. Turner²

¹*Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin
Department of Medical Biochemistry, Martin, Slovakia*

²*School of Molecular and Cellular Biology Faculty of Biological Sciences
University of Leeds, Leeds, United Kingdom*

³*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences
St. Petersburg, Russia*

The incidence of Alzheimer's disease (AD) and vascular dementia is greatly increased following cerebral ischaemia and stroke. Ischaemia can initiate complex biochemical changes in the brain which include excitotoxicity, oxidative damage, and inflammation and may lead to accumulation of amyloid β peptide ($A\beta$) which derives from its precursor protein (APP) and is the major factor in AD pathogenesis. There are several $A\beta$ -degrading enzymes, which clear the peptide from brain tissue, including neprilysin (NEP), endothelin-converting enzyme (ECE) and insulin-degrading enzyme (IDE). The aim of our study was to analyse the effects of global 15 *min* ischaemia on the levels of APP, NEP, ECE and IDE in the cortex and hippocampus of rats. Since ischaemia itself and also $A\beta$ derived from APP are connected to the increased production of reactive oxygen species the markers of oxidative damage were also determined. After ischaemia APP protein levels in the membrane fractions from rat brain were found to be significantly higher (by 16% in the hippocampus, and 90% in the cortex). The amount of sAPP β soluble fragments produced by β -site APP cleavage enzyme (BACE1) was also increased which correlated with up-regulated mRNA and protein levels of BACE1 observed after ischaemia. On the contrary, ischaemia led both to decreased protein and mRNA levels of NEP and ECE which contributes to increased levels of their substrates including $A\beta$. The markers of oxidative damage (dityrosine, products of lipid peroxidation and conjugated dienes) were found to be increased after ischemia. Although we observed significant changes in the protein and mRNA levels of APP, BACE1, NEP and ECE we believe that post-transcriptional oxidative damage of these proteins might affect their functioning as well. In general, the data obtained demonstrate that ischaemia shifts APP processing towards the amyloidogenic β -secretase pathway and reduces $A\beta$ clearance which can result in accumulation of $A\beta$ peptide triggering further oxidative stress and promote development of AD pathology.

Supported by MZ SR 2012/29-UKMA-6, FP7-PEOPLE-2010-IEF, MRC UK, RFBR (13-04-00388), Program of RAS «Fundamental Sciences to Medicine».

*Eva Babusikova
Department of Medical Biochemistry
Jessenius Faculty of Medicine in Martin
Comenius University in Bratislava
Martin, Slovakia*

USING OF MRI AND MRS AS A DIAGNOSTIC TOOL FOR NEURODEGENERATIVE DISEASES

D. Dobrota¹, Š. Sivák², M. Bittšanský¹, P. Hnilicová¹

¹*Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin*
¹*Department of Medical Biochemistry, ²Clinic of Neurology*
Martin, Slovakia

Neurodegenerative diseases include a big group of different disorders affecting the central nervous system. Their common characteristic is neuronal dysfunction or gradual and progressive death. Cellular mechanisms responsible for neuronal loss in neurodegenerative diseases are also largely unknown. Diagnostics of a neurodegenerative disease is based on the presence of a characteristic neurological syndrome. One of the most frequently investigated neurodegenerations is Alzheimer's disease (AD). It initially affects medial temporal lobe structures, especially hippocampus and entorhinal cortex, later on temporal lobe and parietal neocortex. The typical profile of neuropsychological deficits follows this pattern of symptoms. Major routine neuroimaging techniques, including classical MRI sequences are included in the diagnostic protocol. It was recognized that the volume loss in the corpus callosum and central white matter can accompany the massive gray matter loss due to degeneration of axonal processes with subsequent neuronal death and loss. Such white matter degeneration may be well detected with diffusion tensor imaging. There are also remarkable and easily detectable volume changes of both gray and white matter. Proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) allows quantitative assessment of neuronal integrity in chosen CNS regions. The signals of *N*-acetylaspartate (NAA), choline (Cho), creatine (Cr), and myoinositol (mI) and their ratios were compared between the patient and the control group. Choline signal was elevated in the dementia patients with Lewy bodies, but the NAA and mI peak intensities were at similar magnitudes compared with cognitively normal group. The patients with AD have lower NAA and higher myoinositol peak intensities compared with the dementia patients with Lewy bodies. ¹H-MRS is sensitive to detect CNS metabolite changes in patients with neurodegeneration. However, more patients have to be studied for more precise correlation between MRS and clinical state.

Acknowledgement: This work was supported by the Ministry of Health grant MZ 2012/31-UKMA-8 and by project «Center for personalized therapy» co-financed from EC sources and European Regional Development Fund.

Dusan Dobrota
Department of Medical Biochemistry
Jessenius Faculty of Medicine in Martin
Comenius University in Bratislava
Martin, Slovakia

REDUCTION OF ROS LEVEL AS ONE OF THE NEUROPROTECTIVE MECHANISMS OF HBO AND HH TREATMENT AFTER H-I

M. Gamdzyk, A. Ziembowicz, E. Salinska

*Department of Neurochemistry, Mossakowski Medical Research Centre, PAS
Warsaw, Poland*

Hypoxic-Ischemic encephalopathy results in significant mortality and long-term morbidity. In our previous studies we proved that hyperbaric oxygen (HBO) and hypobaric hypoxia (HH) both reduce brain damage in experimental model of hypoxia-ischemia (H-I). The aim of the present study was to evaluate the effect of HBO and HH on reactive oxygen species (ROS) production and antioxidative enzymes activities – superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (Gpx) in 7-day old rat brain after H-I.

In model of H-I ipsilateral common carotid artery ligation is followed by 75 *min* hypoxia. HBO (2,5 *ATA*) or HH (0,5 *ATA*) was applied 1, 3 or 6 *h* after H-I for 60 *min*. Treatment was repeated for 3 following days.

DCF test showed that H-I causes almost 5,5-fold increase in ROS production in ipsilateral hemisphere, but not in contralateral hemisphere. Both HBO and HH reduced ROS level – HBO by 39, 24 and 23%, HH by 54, 52 and 33% applied 1, 3 and 6 *h* after H-I, respectively.

H-I resulted in 8,5-fold increase in SOD activity in ipsilateral hemispheres. SOD activity changed in a different manner after subjection to HH, than after HBO administration after H-I. HH further increased activity of this enzyme by another 36, 11 and 6%, but HBO reduced this activity by 63, 46 and 18%.

Similar pattern was observed for Gpx activity. Obtained results show almost 2,5-fold increase in glutathione peroxidase activity, treatment with HH additionally increases this activity – by 41, 14 and 21%, while HBO used after H-I reduces Gpx activity by 30, 12 and 11%, used respectively 1, 3 and 6 *h* after H-I. There were no significant changes in catalase activity when HH was applied after H-I insult, but HBO caused reduction in CAT activity by 25 and 24% when used 1 and 3 *h* after H-I, respectively. Our results show that HH and HBO partially restore initial, pre-ischemic level of GSH concentration in the ipsilateral hemispheres.

Increase in activity of antioxidative enzymes in ipsilateral hemispheres after H-I is probably a compensation to high ROS concentration. HBO and HH applied after H-I alter antioxidative enzymes activity – HH increases (mobilizes) their activity causing the significant neutralization of ROS, whilst HBO therapy decreases antioxidative enzymes activity, which may be the effect of suppression of oxygen radicals production in early phase of the injury.

*E. Salinska
Department of Neurochemistry
Mossakowski Medical Research Centre of PAS
Poland, 02-106 Warszawa, Pawinskiego, 5
E-mail: esalinska@imdik.pan.pl*

MISFOLDED α -SYNUCLEIN SPECIES,
MODIFIED BEHAVIOR AND BRAIN NEUROCHEMISTRY

M. A. Gruden¹, R. D. E. Sewell²

*Anokhin Institute of Normal Physiology, Russian Academy of Medical Sciences
Moscow, Russia*

*Cardiff School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences
Cardiff University, UK*

Parkinson's disease is a neurodegenerative disorder in which both alpha-synuclein (α -syn) and dopamine (DA) have a critical role. α -Syn itself is known to be natively unstructured but it is in equilibrium with subpopulations of more compact structures and it is these aggregates that are thought to be linked to amyloid formation. Using biophysical and biochemical methods, we have demonstrated that *in vitro* α -syn can form alternative, non-native amyloid self-assemblies including amyloid oligomers and fibrils. In the presence of DA, α -syn yields a diverse range of SDS-resistant, non-amyloid oligomers whose precursor conformation has not been established. However, it is known that dopamine binding to α -syn is mediated by specific conformational states. Our studies instigated a novel PD model based on nasal inoculation with α -syn aggregates which expressed parkinsonian-like behavioral and immunological features. The current study in mice substantiated the robustness of the amyloid nasal vector model by examining behavioral consequences with respect to DA-ergic neurochemical corollaries. *In vitro* generated α -syn oligomers and fibrils were characterized using atomic force microscopy and the thioflavin T binding assay. These toxic oligomers or fibrils administered alone (0.48 mg/kg) or their 50:50 combination (total dose of 0.48 mg/kg) were given intranasally for 14 days and "open-field" behavior was tested on days 0, 15 and 28 of the protocol. Behavioral deficits at the end of the 14-day dosing regime and on day 28 (i.e. 14 days after treatment completion) induced rigidity, hypokinesia and immobility. This was accompanied by elevated nigral but not striatal DA, DOPAC and HVA concentrations in response to dual administration of α -syn oligomers plus fibrils but not the oligomers by themselves. α -Syn fibrils intensified not only the hypokinesia and immobility 14 days post treatment, but also reduced vertical rearing and enhanced DA levels in the substantia nigra. Only nigral DA turnover (DOPAC/DA but not HVA/DA ratio) was augmented in response to fibril treatment but there were no changes in the striatum. Additionally, activation of the immune system towards misfolded α -syn species and dopamine occurred during the experimental protocol in mice. Compilation of these novel behavioral, immunological and neurochemical findings substantiate the validity of the α -syn nasal vector model for investigating parkinsonian-like symptoms.

*M.A. Gruden
Anokhin Institute of Normal Physiology
Russian Academy of Medical Sciences
Moscow, Russia
E-mail: mgruden@mail.ru*

*R.D.E. Sewell
Cardiff School of Pharmacy
and Pharmaceutical Sciences
Cardiff University, UK*

A PRELIMINARY *in vivo* ^{31}P MRS STUDY OF BRAIN TUMOR
ON A 1.5 TESLA WHOLE BODY MR SCANNER

P. Hnilicová¹, D. Dobrota¹, Š. Sivák², M. Bittšanský¹

¹*Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin*

¹*Department of Medical Biochemistry, ²Clinic of Neurology*

Martin, Slovakia

Phosphorus-31 MR Spectroscopy (^{31}P MRS) provides a non-invasive insight into the tissue *in vivo* and allows get information about the energy metabolism, about the membrane phosphates changes and about the intracellular pH. The common metabolites detected by ^{31}P MRS are adenosine triphosphate (ATP), phosphocreatine (PCr), inorganic phosphate (Pi), phosphomonoesters (PME), and phosphodiester (PDE). A number of researchers use various ratios of these metabolites, but the most useful ratio for brain tumor diagnosis is still not agreed. The clinical application of ^{31}P MRS at field strength of 1.5 Tesla for brain tissue investigation is somehow limited. One reason for this may be the relatively low sensitivity of ^{31}P MRS. Therefore, larger voxels and longer scan time have to be chosen. Furthermore, it is demonstrated the complexity of the post-processing procedure. In our study, the MR spectra were obtained by collecting FID signal using the 3D CSI sequence. We adapted a 27 mL voxel volume and a 30 minutes total scan time including the measuring for localization. We designed this study to evaluate the clinical feasibility of brain tissue ^{31}P MRS at a 1.5 Tesla whole body MR scanner and to determine the useful spectroscopic parameters, which enable to analyze the intracranial tumors.

Acknowledgement: This work was supported by the Ministry of Health grant MZ 2012/31-UKMA-8 and by project «Center for personalized therapy» co-financed from EC sources and European Regional Development Fund.

*Dusan Dobrota
Department of Medical Biochemistry
Jessenius Faculty of Medicine in Martin
Comenius University in Bratislava
Martin, Slovakia*

INTERLEUKIN 6 POLYMORPHISMS AND MULTIPLE SCLEROSIS

J. Jurecekova¹, M. Sivonova-Kmetova¹, J. Michalik²,
D. Dobrota¹, E. Babusikova¹

¹Comenius University in Bratislava, Jessenius Faculty of Medicine in Martin

¹Department of Medical Biochemistry, ²University Hospital Martin

Martin, Slovakia

Multiple sclerosis (MS) is the most common chronic disease of the central nervous system and one of the leading causes of neurological deficits and disability in young adults. It is an inflammatory demyelinating autoimmune disorder. Excessive secretion of cytokines by inflammatory cells contributes to neuronal cell deficits that precede neurodegenerative changes in MS. Both environmental and genetic factors play roles in MS pathogenesis. Interleukin 6 (IL-6), one of the pro-inflammatory cytokines, is thought to have an important role in the autoimmune diseases. Therefore in our study we analysed IL-6 polymorphisms (2 promoter: rs2069827, 1800795 and 5 intronic: rs2069835, rs2069837, rs206692, rs1474347, rs2069840) in MS patients. We used DNA chip analysis (Affymetrix® Genome-Wide Human SNP Array 6.0) for detection of IL-6 polymorphisms. Study group consisted of 50 MS patients (25 with severe form, 25 with mild form) and 20 healthy controls. In the current study we detected statistically significant association of GT genotype of IL-6 promoter (rs2069827) polymorphism (OR=12.66; 95% CI 0.71-225.28; $p=0.02$) with MS in the overall group of MS patients, as well as its significant association with both severe form (OR=10.46; 95% CI 0.54-202.07; $p=0.04$) and mild form (OR=15.81; 95% CI 0.84-296.85; $p=0.01$) of disease. Although, the association of TC genotype of intronic rs2069835 polymorphism with MS was on the border of statistical significance (OR=6.171; 95% CI 0.74-51.29; $p=0.06$) in the overall group of patients, statistically significant association of TC genotype of rs2069835 was observed with the mild form of MS (OR=7.71; 95% CI 0.823-66.734; $p=0.04$). We didn't detect any positive correlation between MS and rs2069837, rs2069840, rs206992, rs1474347, rs1800795 polymorphisms of IL-6. Our results suggest that the IL6 gene may influence the development of multiple sclerosis and its progression.

This work was supported by grant MZ SR 2012/29-UKMA-6.

*Eva Babusikova
Department of Medical Biochemistry
Jessenius Faculty of Medicine in Martin
Comenius University in Bratislava
Martin, Slovakia*

CHOLINESTERASES AND NEPRILYSIN ACTIVITIES IN BLOOD PLASMA
OF PATIENTS WITH MILD COGNITIVE IMPAIRMENT AS MARKERS
OF DISEASE PROGRESSION AND THERAPEUTIC EFFICACY

D. I. Kozlova¹, S. A. Plesneva¹, S. I. Gavrilova², Ya. B. Fedorova²,
N. N. Nalivaeva³, A. J. Turner³, I. A. Zhuravin¹

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS
St. Petersburg, Russia*

²*Scientific Center for Mental Health, Russian Academy of Medical Sciences
Moscow, Russia*

³*School of Molecular and Cellular Biology, University of Leeds
Leeds, LS2 9JT, UK*

Pathological accumulation of cortical amyloid β -protein ($A\beta$) is an early and consistent feature of Alzheimer's disease (AD). $A\beta$ levels in the brain are determined by its production and catabolism by a cohort of amyloid-degrading enzymes. Previous studies suggest that deficits of neprilysin (NEP) which is a major amyloid-degrading peptidase in the brain and periphery may promote $A\beta$ deposition in patients with sporadic late-onset AD. On the other hand, acetyl- and butyrylcholinesterases (AChE, BChE) were also shown to be contributing to the AD pathology. In this study we have analysed a correlation between the levels of NEP, AChE and BChE activity in blood serum of patients with the levels of their cognitive decline and if these parameters could be used as a predictor of the outcome of the disease progression and therapy. This study was performed in 74 patients with different stages of mild cognitive impairment (MCI) and AD and 12 healthy control patients who were tested by mini-mental state examination (MMSE) and Alzheimer's disease assessment scale-cognitive subscale (ADAS) scores. NEP, AChE and BChE activity was measured in blood serum samples by appropriate enzymatic methods. Also the effect of treatment of MCI patients with an anti-ischemic drug ceraxon was monitored both by the cognitive tests and analysis of the enzyme activity in blood samples. The data obtained demonstrated that the activity of AChE, BChE and NEP were decreased in patients with MCI and AD and correlated with their MMSE and ADAS scores and that treatment of MCI patients with ceraxon restored NEP activity in the serum. We conclude that NEP, AChE and BChE enzyme activity might be used as a clinical marker of the degree of cognitive impairment and as a predictor of the efficacy of therapeutic intervention.

Supported: RFBR (13-04-00388), Program of RAS «Fundamental Sciences for Medicine», Alzheimer's Research UK (ARUK).

*D. I. Kozlova
Sechenov Institute of Evolutionary
Physiology and Biochemistry
Russian Academy of Sciences
194223 St. Petersburg, Russia*

ROLE OF ENVIRONMENTAL FACTORS
IN EPIGENETIC REGULATION OF NEURONAL GENES

N. N. Nalivaeva

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, St. Petersburg
School of Molecular and Cellular Biology, University of Leeds, Leeds, LS2 9JT, UK*

In recent years epigenetic regulation of neuronal functions has become one of the most intensively studied areas in neurobiology and neurochemistry. Understanding the mechanisms regulating gene expression in the course of development and adaptation of the organism to the permanently changing environment is a very important scientific task. This will provide us with new effective tools for therapeutic intervention for improving brain functions and for protecting it against development of pathologies. A special role in the process of epigenetic regulation of neuronal genes belongs to chromatin modifications at the level of DNA methylation and histone acetylation. Various environmental factors, e.g. hypoxia and oxidative stress, affect brain functioning by changing the character of chromatin status. In these processes an important role belongs to histone deacetylases (HDAC) which control gene silencing. Recently it was shown that expression of a number of neuronal genes, including those involved in amyloid metabolism, are epigenetically regulated by the activity of HDACs and the intracellular fragment of amyloid-precursor protein (AICD) which competitively bind to their promoters. Among the products of such genes are a neuropeptidase neprilysin and a transport protein transthyretin, both participating in amyloid clearance. Inhibitors of HDACs, in particular, valproic acid, were shown to up-regulate NEP expression and activity leading to reduction of amyloid deposits. Amyloid precursor protein regulates expression of other proteins, such as AChE and insulin-degrading enzyme by different mechanisms which will be discussed. APP also affects HDAC levels and as such can participate in regulation of other gene expression. This work opens new avenues in designing drugs protecting against neurodegeneration and AD which we are currently investigating further both in cell and animal models.

Supported: RFBR (13-04-00388), Program of RAS «Fundamental Sciences for Medicine», Alzheimer's Research UK (ARUK).

*Natalia N. Nalivaeva
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry
Russian Academy of Sciences
194223 St. Petersburg, Russia
School of Molecular and Cellular Biology
University of Leeds, Leeds, LS2 9JT, UK*

MONITORING OF NUCLEOTIDE BINDING TO G-PROTEINS
BY NOVEL FLUORESCENCE-BASED METHODS

Ago Rinke, Lauri Tõntson, Sergei Kopanchuk

*University of Tartu, Institute of Chemistry
Tartu, Estonia*

Heterotrimeric G-proteins relay extracellular signals to intracellular effector proteins. Several abnormalities in signal transduction which are related with different disorders have been proposed to be caused by dysregulation of functioning of G-proteins. During the last years we have implicated three novel fluorescence-based approaches for characterization of activation different subtypes of G-proteins and which can shed light also to their dysregulations.

The biarsenic fluorescent ligand 4',5'-bis(1,2,3-dithioarsolan-2-yl)-2',7'-difluorofluorescein (F₂FlAsH) binds to various wild-type G-protein α -subunits *via* high-affinity As-cysteine interactions. This allosteric label enables real time monitoring of nucleotide binding to α -subunits *via* changes in fluorescence anisotropy, intensity and lifetime of F₂FlAsH-G-protein complexes. Addition of nucleotides to F₂FlAsH-labeled α -subunits caused concentration-dependent effects on their fluorescence anisotropy. While GDP and GMP increased the fluorescence anisotropy of F₂FlAsH complexes with α_i -subunits, they had the opposite effect on α_s , α_q , α_{olf} , and α_{13} subtypes.

The real-time binding of nucleotides to purified recombinant heterotrimeric G-protein α subunits could be monitored by measuring fluorescence anisotropy of Bodipy-FL-GTP γ S. Depletion of GDP from α subunits made α subunits to be unstable at room temperature and therefore the nucleotide binding could be characterized only in a non-equilibrium state.

The activation of G-proteins can be studied also by monitoring of the changes in ligand binding properties of coupled receptors. We have shown that Bodipy-FL-NAN-190 suited well for characterization of ligand binding to 5-HT_{1A} receptors expressed in budded baculovirus particles, as binding is accompanied by large increases in fluorescence intensity and anisotropy. This assay system is also sensitive to the presence of G-proteins and guanine nucleotides.

These methods allowed to characterize activation of G proteins from different angle and revealed several subtype-specific properties of α -subunits in binding of nucleotides and its regulation by Mg²⁺/Mn²⁺ and by receptors.

Supported by Estonian Research Council (IUT 20-17) and European Union through the European Regional Development Fund (TK114 and 30020).

*Ago Rinke
University of Tartu
Institute of Chemistry
Ravila 14a, 50411 Tartu, Estonia*

MOLECULAR BASIS OF ALZHEIMER'S DISEASE
– NEW INSIGHTS AND NEW PATHWAYS

A. J. Turner¹, N. N. Nalivaeva^{1,2}

¹*Scientific Center for Mental Health, Russian Academy of Medical Sciences
Moscow, Russia*

²*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS
St. Petersburg*

Aberrant metabolism of the amyloid precursor protein (APP) provides the initial trigger for the development of amyloid pathology in Alzheimer's disease (AD). While the metabolism of APP has been well studied, much less is known of the normal physiological roles of APP. APP is processed in two different catabolic pathways: a minor amyloidogenic pathway in which APP is cleaved by β - and γ -secretases releasing A β peptide and a predominant (>95%) non-amyloidogenic pathway in which the protein is successively cleaved by α - and β -secretases precluding A β production. A β oligomers are the toxic species and act *via* the prion protein (PrP) as receptor. PrP also inhibits β -secretase. Soluble, extracellular domains of APP are also released following the actions of α -secretase (sAPP α) and β -secretase (sAPP β). The various APP metabolites have distinct physiological functions, including A β , which may play roles as diverse as ion channel regulation, control of haemostasis and transcriptional activation. In both catabolic pathways, the γ -secretase-mediated cleavage of APP, after α - or β -secretase action, releases the APP intracellular domain (AICD), which regulates transcription of several genes, including APP itself, the β -secretase BACE-1 and the A β -clearance proteins, neprilysin (NEP). There are three major isoforms of APP (APP₆₉₅, APP₇₅₁, APP₇₇₀) generated by alternative splicing but, in the brain, APP₆₉₅ is principally neuronal and expressed at relatively high levels compared with the other two isoforms. Although all APP isoforms are potentially amyloidogenic, in neuronal cell lines, sAPP β , A β and transcriptionally active AICD are preferentially formed from the neuronal APP₆₉₅ isoform. Among its actions, APP plays important roles in brain development, synaptic plasticity and traumatic brain injury, and secreted forms of APP are neuroprotective. A fuller understanding of the physiological and pathological actions of APP and its metabolic network could provide new opportunities for therapeutic intervention in AD.

Supported by MRC UK, ARUK UK, RFBR (13-04-00388), Programme of RAS «Fundamental Sciences for Medicine».

*Anthony J. Turner
School of Molecular and Cellular Biology
University of Leeds, Leeds, LS2 9JT, UK*

THE ROLE OF ZINC IN TOXICITY EVOKED BY SILVER NANOPARTICLES IN PRIMARY NEURONAL CULTURES

E. Zieminska, B. Dabrowska-Bouta, E. Salinska, L. Struzynska

*Department of Neurochemistry, Mossakowski Medical Research Centre, PAS
Warsaw, Poland*

Nanoparticles are known to enter the vertebrate brain, but little is known about their neurotoxicity. Silver nanoparticles (AgN) are commonly used in life sciences applications and have become recently one of the most commonly used nanomaterials. The aim of this study is to investigate mechanisms of the contribution of AgN to neuronal cell death, using primary cultures of rat cerebellar granule cells (CGCs). We tested a hypothesis concerning the role of zinc in AgN-evoked neurotoxicity using TPEN – a chelator of zinc ions. We used commercially available 0.2% PVP-coated AgN < 100 nm in a concentration range of 2.5–75 µg/ml sonicated with fetal calf serum. First we tested impact of Zn²⁺ on viability of CGC after 24 h incubation with 75 µg/ml AgN. Elimination of Zn²⁺ resulted in massive death of CGC, but supplementation with 10–50 µM ZnCl₂ increased cells viability from 47% to max. 64%. We also studied the effect of zinc on ⁴⁵Ca²⁺ uptake and intracellular calcium level. In both cases addition of zinc was protective. In subsequent studies we tested negative/positive effects on mitochondrial membrane potential and ROS production in conditions when zinc was eliminated/supplemented in the cell cultures. Application of 20 µM TPEN decreased mitochondrial potential, but ZnCl₂ was ineffective. Addition of zinc chelator dramatically (from 100 to 350%) increased ROS production. This increase was completely inhibited by 25 µM ZnCl₂. In subsequent studies we determined the intracellular GSH, SOD1 and SOD2 level and catalase activity. Our results show that after 24 h incubation with AgN GSH level is stable compared to control, SOD1 level decreases by about 20% but SOD2 increases to 250% of control. Catalase activity decreases from 90 to 30 nmol/min/ml. Our results show that zinc is a very important component, which can decrease (in higher concentration) or increase (in lower level) neuronal mortality in CGC. On one hand zinc ions in our condition can act as blocker NMDA receptor, on the other as a stabilizer of enzymes responsible for free radical scavenging.

E. Salinska

*Department of Neurochemistry
Mossakowski Medical Research Centre of PAS
Poland, 02-106 Warszawa, Pawinskiego, 5
E-mail: esalinska@imdik.pan.pl*

РОЛЬ МОДУЛЯЦИИ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ И СТАБИЛИЗАЦИИ
МИТОХОНДРИЙ В ЗАЩИТНОМ ЭФФЕКТЕ АНТИОКСИДАНТОВ
НА НЕРВНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

Н. Ф. Аврова, И. О. Захарова, Н. Ф. Соколова, Л. В. Баюнова,
Ю. А. Власова, В. В. Фураев, М. П. Рычкова

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

Окислительный стресс во многом определяет повреждение и гибель нейронов при нейродегенеративных, ишемических и других поражениях мозга. Такие соединения, как флаваноиды, ацетил-*L*-карнозин, карнитин, ганглиозиды и α -токоферол (α -Т) повышают жизнеспособность клеток в условиях окислительного стресса, причем в последние годы показано, что их эффект в значительной мере зависит от модуляции ими сигнальных систем. В наших работах на клетках нейрональной линии и нейронах в культуре проводится изучение защитного эффекта антиоксидантов в их физиологических концентрациях, характерных для межклеточного пространства мозга, для ганглиозидов и α -Т – это наномолярные концентрации. Такого рода исследования пока единичны и фрагментарны.

Показано, что α -Т повышает жизнеспособность первичных культур нейронов коры мозга (и клеток нейрональной линии РС12) против действия H_2O_2 не только в микро-, но и в наномолярных концентрациях при длительной (18 ч) преинкубации с ним. В обоих типах клеток защитный эффект α -Т зависит от модуляции активности протеинкиназы *B* (Akt), протеинкиназы ERK1/2 и протеинкиназы *C*, но характер модуляции активности этих ферментов существенно различается. Защитный эффект ганглиозида GM1 против действия H_2O_2 на клетки РС12 или глутамата на клетки-зерна мозжечка проявляется не только в микро-, но и в наномолярных концентрациях. Защитный эффект GM1 на нервные клетки опосредуется активацией тирозинкиназы Trk рецепторов, последующей активацией Akt, ERK1/2 и модуляцией активности протеинкиназы *C*. Изучено влияние H_2O_2 , α -Т и GM1 на соотношение Вах/Vcl-xL и на экспрессию факторов транскрипции, ответственных за синтез белков митохондрий. Обнаружено, что микро- и наномолярный α -Т уменьшает базальное отношение про- к антиапоптотическому белку Вах/Vcl-xL в клетках РС12. Ганглиозид GM1 способствует увеличению уровня антиапоптотического белка митохондрий Vcl-xL в контрольных и подвергшихся действию H_2O_2 клетках.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00643).

*Аврова Наталья Федоровна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: avrova@iephb.ru*

РОЛЬ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ
В ЭФФЕКТАХ МАТЕРИНСКОГО СТРЕССА
НА ПРИСПОСОБИТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ПОТОМКОВ

В. К. Акулова, Н. Э. Ордян

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

В последние годы в литературе накоплено большое количество данных о влиянии материнского стресса, ассоциированного с повышенным уровнем глюкокортикоидных гормонов в крови, на способность к адаптации потомков. Последствия материнского стресса проявляются уже в раннем периоде онтогенеза в виде изменения активности гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГАС), и далее в пубертатный и постпубертатный периоды развития увеличивается риск возникновения депрессивных и тревожных расстройств, которые также ассоциированы с дисфункцией этой гормональной оси. Нами показано, что в основе деструктивных эффектов пренатального стресса на активность ГГАС и ряд поведенческих характеристик крыс лежит повышение уровня глюкокортикоидов в крови беременных самок, что сопровождается перестройкой специфической глюкокортикоидной рецепции в ряде структур головного мозга новорожденных крысят. Такая перестройка проявляется как в способности глюкокортикоидных рецепторов связываться с гормоном, так и в изменении уровня экспрессии самого рецепторного белка в гиппокампе. Именно изменение рецепции глюкокортикоидов в неонатальный период развития, оказалось значимым для формирования контуров регуляции ГГАС и характера приспособительного поведения в последующей жизни, что подтвердилось в опытах с неонатальным введением блокатора глюкокортикоидных рецепторов. В качестве одного из основных механизмов нарушения глюкокортикоидной рецепции в гиппокампе пренатально стрессированных животных рассматривается нарушение обмена серотонина в этой мозговой структуре. Помимо глюкокортикоидов в действие пренатального стресса вовлечены половые стероидные гормоны и изменение их метаболизма в мозге. Пренатальный стресс вызывает снижение активности фермента ароматазы и повышение активности 5α -редуктазы в головном мозге крыс в «критический период» половой дифференцировки головного мозга, а торможение в мозгу ароматизации тестостерона путем пренатального введения блокатора ароматазы (1,4,6-андростатриен-3,17-дион) приводит к изменению стрессорной активности ГГАС у половозрелых животных обоего пола, а также нарушает формирование в соответствии с полом уровня тревожности и поведения в новой среде.

*Акулова Виктория Константиновна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: neo@infran.ru*

ВОЗМОЖНОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ЭЭГ
В ИССЛЕДОВАНИИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ЦНС
ПРИ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

И. А. Андропова, Т. В. Черний, К. В. Назаренко,
В. И. Черний, М. А. Андропова

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького
Украина*

Обследовано 19 клинически здоровых добровольцев (ЗД): 10 мужчин и 9 женщин в возрасте от 7 до 49 лет. Проанализированы амбулаторные карты 7 пациентов с болезнью Паркинсона (БП) в возрасте от 43 до 64 лет (2 мужчин и 5 женщин), получавших консультативную помощь в Донецком областном клиническом территориальном медицинском объединении. Обследовано 5 пациентов, перенесших острую церебральную недостаточность с исходом в апаллический синдром (АС). Регистрацию биопотенциалов мозга осуществляли с помощью нейрофизиологического комплекса DX-NT32. Для оценки уровня активности холинергической системы (ХС) головного мозга определяли показатели абсолютной спектральной мощности (АСМ) в диапазоне 6–7,5 Гц, дофаминэргической (ДоФС) – в диапазоне 11–12 Гц. Статистический анализ данных проводили программой MedStat.

Значения АСМ в диапазоне 6–8 Гц, характеризующие активность ХС в ЦНС, у пациентов с БП были достоверно ниже ($p \leq 0,05$), чем у ЗД, максимально в левом лобном и билатерально в окципитальных отделах коры больших полушарий. Уровни АСМ в диапазоне 11–12 Гц, который характеризует ДоФС, во всех исследуемых отведениях у пациентов группы с БП были снижены ($p \leq 0,05$) относительно показателей в группе ЗД. Значения АСМ в диапазоне 6–8 Гц у пациентов с АС были достоверно ниже ($p \leq 0,05$), чем у ЗД, максимально билатерально в окципитальных отделах коры больших полушарий и ниже ($p \leq 0,05$), чем у пациентов с БП, максимально в лобных и височных отделах коры БП. Уровни АСМ в диапазоне 11–12 Гц у пациентов с АС во всех исследуемых отведениях были ниже ($p \leq 0,05$), чем у пациентов группы с БП и были максимально снижены ($p \leq 0,05$) относительно показателей в группе ЗД. Применение глиатилина – холиномиметика центрального действия – повышало уровни АСМ в диапазоне 6–8 Гц у больных с БП (преимущественно в окципитальных отделах) и у пациентов с АС (максимально в проекции левых отведений). У глиатилина отмечен дозозависимый эффект активации ХС в ЦНС у пациентов с АС.

*Андропова Ирина Анатольевна
Донецкий национальный медицинский
университет им. М. Горького
Украина, 83012 Донецк, пр. Ильича, 16
E-mail: irina.andronowa2011@yandex.ua;
vicerecordnmu@yandex.ua*

ЕДИНИЧНЫЙ ЭПИЗОД ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ СУДОРОГ
СОПРОВОЖДАЕТСЯ РАЗВИТИЕМ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИЙ
КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ У КРЫС

В. А. Аниол, А. Ю. Иванова-Дятлова, А. О. Тишкина, Н. В. Гуляева

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
Москва*

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

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

Исследование было частично поддержано грантами РГНФ (№ 13-36-01277) и РФФИ (№ 12-04-00930), программой ПРАН «Фундаментальные науки – медицине».

*Аниол Виктор Александрович
Лаборатория функциональной
биохимии нервной системы
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5а
E-mail: aniviktor@narod.ru*

ВЛИЯНИЕ ОЗОНИРОВАННОГО РАСТВОРА МЕКСИДОЛА
НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА
В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ В РАМКАХ СМОДЕЛИРОВАННОГО
ОТЕКА–НАБУХАНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЖИВОТНОГО
ПРИ ОБТУРАЦИОННОМ ХОЛЕСТАЗЕ

А. С. Арапов, М. В. Шпагин

Нижегородская государственная медицинская академия

В настоящее время терапия печеночной энцефалопатии, осложненной отеком головного мозга, требует изыскания новых и дальнейшего совершенствования известных методов. Внепеченочный холестаза воспроизводили у 42 собак под внутривенным наркозом (45 мг/кг тиопентала натрия) путем интраоперационного наложения лигатурной перетяжки на холедох. В I серии (10 собак) декомпрессия холедоха не производилась. Во II серии (10 собак) на 3-и сутки осуществляли декомпрессию холедоха с последующим внутривенным введением 5%-го раствора мексидола на 0,9%-м растворе NaCl. В III серии (10 собак) после декомпрессии холедоха внутривенно вводили озонированный 0,9%-й раствор NaCl в дозе 20 мл/кг. В IV серии (12 собак) после декомпрессии на 3-и сутки внутривенно вводили озонированный мексидол в дозе 20 мл/кг, с дозировкой мексидола 6,45 мг/кг. На 7-е сутки производили забор крови, затем животные выводились из эксперимента, производилось вскрытие, с забором мозговой ткани для гистологического исследования. В 1-й серии на 3-и сутки эксперимента уровень мочевины повышался в 1,9 раза, общий белок – в 1,4 раза, малонового диальдегида – в 4,14 раза и уменьшение активности каталазы – в 2,8 раза от исходного уровня. Макроскопически наблюдались влажность и помутнение поверхности мозга, увеличение его объема, дряблость мозгового вещества, на поверхность выделялось много свободной жидкости. На гистологических препаратах определялся выраженный периваскулярный и перипеллюлярный отек головного мозга, отмечались расширенные капилляры, переполненные эритроцитами, расположенными в виде «монетных столбиков». На фоне декомпрессии холедоха и в/в введении мексидола, как и озонированного физиологического раствора, показатели снижались незначительно, при микроскопии ткани сохранялся отек. На фоне введения озонированного раствора мексидола биохимические показатели к 7-му дню пришли к исходным значениям, при световой микроскопии наблюдалось полное открытие просвета сосудов, отсутствие отечности ткани. Таким образом, внутривенное введение озонированного раствора мексидола оказывает более выраженный лечебный эффект, это проявляется ранней нормализацией показателей функционального состояния головного мозга и продуктов липопероксидации, стиханием периваскулярного и перипеллюлярного отека, а также способствует стабилизации гемато-энцефалического барьера, значительному восстановлению морфофункциональных нарушений в головном мозге.

Арапов Артем Сергеевич

Кафедра неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики

Нижегородская государственная медицинская академия

603005 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

E-mail: shpagin-maksim@rambler.ru

НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ РОЛЬ КОРОТКИХ ПЕПТИДОВ
ПРИ НАРУШЕНИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ЦИКЛОВ

А. В. Арутюнян, А. В. Кореневский, М. Г. Степанов,
Ю. П. Милютин, Л. С. Козина*

*Научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта*

**Санкт-Петербургский институт
биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН*

Санкт-Петербург

Многочисленные экспериментальные исследования показали, что нейротоксические соединения различной природы экзогенного и эндогенного происхождения вызывают нарушения гипоталамо-гипофизарного, звена регуляции репродуктивной системы (Арутюнян А. В. и соавт., 1997–2013). Наиболее вероятной причиной этих нарушений является воздействие нейротоксикантов и образуемых в процессе их метаболизма свободных радикалов на нейромедиаторные системы, вовлеченные в регуляцию синтеза и секреции гонадотропин-релизинг гормон (ГнРГ). После хронического и острого воздействия ряда факторов, обладающих нейротоксическим действием (толуол, 1,2-диметилгидразин, гипергомоцистеинемия) было выявлено изменение содержания ГнРГ, которое сопровождалось изменением содержания и суточных ритмов биогенных аминов в медиальной преоптической области и срединном возвышении гипоталамуса. Предприняты подходы поиска соединений, способных предохранить моноаминергические системы гипоталамуса от различных неблагоприятных химических и физических факторов, а также нормализовать нарушенные процессы передачи информации о суточном периодизме к этим нейромедиаторным системам. В связи с этим оказалось перспективным использование гормона пинеальной железы мелатонина, а также разработанных в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии препаратов пинеальной железы (эпиталамин) либо пептидных препаратов, синтезированных на основе анализа их аминокислотной последовательности (эпиталон, пинеалон). Механизмом защитного эффекта мелатонина может быть его синхронизирующее действие на нейроны супрахиазматических ядер, а также способность регулировать активность нейромедиаторных систем гипоталамуса. Мелатонин также оказывает влияние благодаря его антиоксидантным свойствам, поскольку нейротоксическое действие многих ксенобиотиков связано с образованием активных форм кислорода. В основе нейропротекторного действия препаратов пинеальной железы может лежать их способность стимулировать и (или) синхронизировать синтез и секрецию эндогенного мелатонина, а также активировать ферментативные антиоксидантные системы организма.

*Арутюнян Александр Вартанович
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3
E-mail: arutjunyan@aa3703.spb.edu*

ЭФФЕКТЫ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ЭКСПРЕССИЮ
ФЕРМЕНТА СИНТЕЗА СЕРОТОНИНА И АНТИАПОПТОЗНОГО БЕЛКА
В СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКИХ ЯДРАХ ШВА

Е. В. Баблюк, В. В. Бульгина, Г. Т. Шишкина

*Институт цитологии и генетики СО РАН
Новосибирск*

Стресс является важным фактором риска развития психоэмоциональных расстройств, таких как депрессия, однако механизмы его провоцирующего действия не ясны. Эти механизмы, очевидно, включают как повреждающие эффекты стресса на мозг, так и активацию сил, противодействующих этим эффектам. Учитывая вовлеченность центральной серотонинергической системы в психопатологию и терапию депрессивных расстройств, а также защитную функцию в мозге антиапоптозного белка Bcl-xL, в работе иммуногистохимическим методом исследовали экспрессию Bcl-xL и ключевого фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы (ТПГ) в серотонинергических ядрах шва среднего мозга после острого и хронического стресса вынужденного плавания. Хотя отчетливые признаки депрессивно-подобного состояния наблюдаются у грызунов уже во время повторного плавания, ежедневное воздействие в течение двух недель эти признаки значительно усиливало. Примененное стрессорное воздействие также в зависимости от его продолжительности повлияло и на экспрессию исследованных белков. Через 2 часа после повторного вынужденного плавания, экспрессия обоих белков в ядрах шва была достоверно повышенной по сравнению с нестрессированным контролем. Через сутки, экспрессия ТПГ не отличалась от контрольного значения, в то время как экспрессия Bcl-xL продолжала увеличиваться и была выше не только по сравнению с контролем, но и с животными через 2 часа после стресса. В отличие от эффектов этого относительно непродолжительного стрессорного воздействия, экспрессия Bcl-xL через сутки после последнего в течение двух недель ежедневного вынужденного плавания не отличалась от контроля, а экспрессия ТПГ была достоверно сниженной. В целом выявленные неоднозначные на разных этапах стрессорного воздействия изменения экспрессии ТПГ и Bcl-xL, по-видимому, являются отражением, как негативных эффектов стресса, так и активации защитных механизмов, сочетание которых и определяет выраженность индуцируемого стрессом депрессивно-подобного состояния.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-01102).

*Баблюк Екатерина Владимировна
Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10
E-mail: ev.bablyuk@gmail.com*

АПОПТОЗ НЕЙРОНОВ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА
И ЛОКОМОТОРНЫЙ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС
МЫШЕЙ РАЗНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ ПРИ СТАРЕНИИ

Е. Д. Бажанова, Ю. О. Козлова, М. Е. Слаквa*, В. Н. Анисимов**

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

**Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена*

***Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова Росздрава*

Санкт-Петербург

Гибель нейронов при старении не только изменяет структуру мозга, но в значительной степени влияет на функцию. Целью работы было изучить корреляцию уровня апоптоза нейронов сенсомоторной коры головного мозга со степенью изменения локомоторного и психоэмоционального статуса трансгенных мышей HER2 при старении. Контроль – мыши дикого типа (FBV). Исследовали участие экзогенных ноотропов (ангиоген, цитофлавин, пирацетам) в регуляции апоптоза и коррекции возрастных двигательных и поведенческих нарушений. Методы – TUNEL (определение уровня апоптоза), тест Открытое поле, Суок-тест, иммуногистохимия (CD95), Western blotting (p53, caspase-3, -8). Уровень апоптоза нейронов коры у молодых мышей обеих линий невысок и при старении повышается только у мышей FBV. Локомоторные особенности и ориентационно-исследовательское поведение снижаются при старении у животных дикого типа, что может быть связано с возрастными морфологическими изменениями в сенсомоторной коре, отвечающей за локомоцию и психоэмоциональное состояние. Выявленная индукция апоптоза нейронов старых мышей коррелировала со сверхэкспрессией рецепторов CD95 (семейство TNFR), инициаторной caspase-8 и эффекторной caspase-3. У трансгенных мышей поведенческая активность была ниже по сравнению с диким типом, и не отмечено изменений при старении, что можно соотнести с уровнем апоптоза нейронов коры. Вероятно, это является особенностью данной линии. По своему психоэмоциональному статусу мыши HER2 не имеют различий с животными дикого типа, включая возрастную динамику – значительная устойчивость молодых мышей и повышение напряжения вегетативной системы, тревожности на поздних этапах онтогенеза.

Показано, что влияние изученных ноотропных препаратов на локомоторные функции, стрессоустойчивость и тревожность, а также их участие в регуляции апоптоза нейронов зависит от возраста и генетической линии.

*Бажанова Елена Давыдовна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: bazhanovae@mail.ru*

БЫСТРЫЕ РЕАКЦИИ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ И КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ

А. С. Базян

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
Москва*

Крысы линии WAG/Rij являются генетической моделью абсансной эпилепсии человека и обладают характерными пик-волновыми разрядами (ПВР) в ЭЭГ. Первые ПВР у крыс WAG/Rij появляются к 2 месяцам, и полностью разворачиваются к 5–6 месяцам. Но наряду с повышением ПВР у крыс развивается дефицит ДА-системы мозга, который сопровождается нарушением поведения и дефицитом когнитивных функций. Мы исследовали концентрацию моноаминов, их метаболитов методом HPLC и поведение у 2-месячных крыс WAG/Rij. Исследовали 5 структур мозга крыс: префронтальная кора, прилежащее ядро, гипоталамус, стриатум и гиппокамп. В двух сериях экспериментов было показано, изменение концентраций моноаминов НА, ДА, 5-ОТ и их метаболитов ДОФУК, ГВК, 5-ОИУК наблюдается только в префронтальной коре. Общий вывод который можно сделать по поведенческим исследованиям сводится к тому, что у 2-месячных крыс линии WAG/Rij мы наблюдаем самое начало возникновения патологического поведения. Третья серия экспериментов. Влияние облучения тяжелыми частицами – ионами углерода ^{12}C на обмен моноаминов в тех же структурах мозга крыс. Крыс облучали ионами углерода (^{12}C) на ускорителе «Нуклотрон» (Дубна). Показано, что через 3 месяца после такого рода облучения нарушаются когнитивные функции животных и активность ДА-системы мозга. Через 6 месяцев эти нарушения усугубляются. Животных были декапитированы на вторые сутки после облучения. Через сутки после облучения достоверное уменьшение концентраций всех веществ НА, ДА, 5-ОТ и их метаболитов ДОФУК, ГВК и 5-ОИУК наблюдается в префронтальной коре. Уменьшение концентрации ДА наблюдается и в прилежащем ядре, но не достигает достоверности. Во всех остальных исследованных структурах (гипоталамус, стриатум, гиппокамп) значимых различий не наблюдалось. Быстрые реакции префронтальной коры являются ее фундаментальным свойством: Показаны быстрые ответы префронтальной коры на стресс [King et al., 1997]. Быстрое обучение, извлечение недавних воспоминаний [Gonzalez et al., 2013]. Кодирование новых стимулов [Hung et al., 2013]. Быстрое восприятие стимула [Ильющенок и др., 2007; Sysoeva et al., 2007; П'ученюк et al., 2008] и многое другое.

*Базян Ара Саакович
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5а
E-mail: bazyan@mail.ru*

УЧАСТИЕ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ,
НЕЙРОТРОФИНОВ И СТЕРОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ
В ФОРМИРОВАНИИ И ПРЕДОТВРАЩЕНИИ
ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ СОСТОЯНИЙ

К. А. Баранова

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

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей экспрессии активационных и индуцибельных транскрипционных факторов, нейротрофинов, стероидных рецепторов в образованиях мозга, вовлекаемых в патогенез постстрессовых расстройств, при формировании экспериментальных тревожно-депрессивных состояний и их коррекции гипоксическим прекондиционированием у крыс. Изучали паттерны экспрессии факторов pCREB, NF-kB(p65), c-Fos, NGFI-A, HIF-1a, BDNF, глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов в образованиях мозга крыс: в ответ на неизбегаемый психоэмоциональный стресс в модели «выученной беспомощности»; в ответ на травматический стресс в модели посттравматического стрессового расстройства; после применения гипоксического прекондиционирования, предотвращающего развитие постстрессовых патологий. Недостаточная активация факторов CREB и NF-kB(p65), и их мишени BDNF, отсроченная сверхэкспрессия c-Fos и HIF-1a и снижение уровня стероидных рецепторов в исследованных образованиях мозга в условиях патогенного стресса является общим компонентом развития постстрессовых тревожно-депрессивных расстройств. Механизмы антидепрессивного и анксиолитического эффектов гипоксического прекондиционирования в моделях тревожно-депрессивных расстройств включают активацию CREB, NF-kB, BDNF, повышение содержания кортикостероидных рецепторов, нивелирование отсроченной сверхэкспрессии c-Fos и HIF-1a и усиление стресс-индуцированной экспрессии NGFI-A в исследованных образованиях мозга. Полученные результаты расширяют современные представления о роли транскрипционных и нейротрофических факторов в патогенезе постстрессовых депрессивных и тревожных расстройств, а также вносят существенный вклад в понимание нейрональных механизмов повышения адаптивных возможностей организма в условиях интенсивных стрессорных воздействий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00532a).

*Баранова Ксения Александровна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: ksentipra@mail.ru*

МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОТОКСИЧНОСТИ/НЕЙРОПРОТЕКЦИИ:
РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ

Е. А. Беляева

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

На данный момент четко установлено, что митохондрии и митохондриальная дисфункция критически задействованы в процессы старения и такие патологические состояния, как ишемия/гипоксия, диабет, рак, различные нейродегенеративные заболевания, включая болезни Паркинсона и Альцгеймера, а также болезни, связанные с вредным воздействием различных загрязнителей окружающей среды, включая ионы тяжелых металлов. Накоплены данные о том, что активация различных ионных каналов внутренней мембраны митохондрий, таких как Ca^{2+} -зависимая неселективная пора, АТФ-зависимый калиевый канал (миток(АТФ)), Ca^{2+} -активируемый калиевый канал большой проводимости (митокВК(Са)) и др., а также нарушения функционирования дыхательной (электрон-транспортной) цепи митохондрий являются ключевыми событиями во многих из этих процессов. Более того, в последнее время активизировались исследования, включая наши работы, по изучению механизмов взаимосвязи «защитных» калиевых каналов (митокВК(Са), миток(АТФ) и др.) с дыхательной цепью митохондрий и неселективной порой в процессе индукции клеточной смерти различного типа, что говорит о чрезвычайной актуальности данной фундаментальной научной проблемы. В настоящей работе будет сделан краткий обзор современного состояния дел по данному вопросу и проиллюстрирована важная роль митохондрий и митохондриальных ионных каналов в механизмах нейротоксичности/нейропротекции на примере действия ионов тяжелых металлов.

*Беляева Елена Анатольевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: alenab61@mail.ru*

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЙ УМЕРЕННОЙ ГИПОБАРИИ
НА ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ *B* И ЭКСПРЕССИЮ
НЕЙРОПЕПТИДА *Y* В МОЗГЕ МОНГОЛЬСКИХ ПЕСЧАНОК

А. В. Беляков, А. Зембович*, Э. Салинска*, Д. Г. Семенов

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

**Медицинский исследовательский центр им. М. Моссаковского ПАН
Варшава, Польша*

Процедура трехкратной умеренной гипобарической гипоксии (ЗУГГ) интенсивно изучается в качестве превентивного и/или терапевтического стимула запускающего естественную защиту мозга от патогенного стресса, в том числе гипоксической (ишемической) природы. Особое внимание привлекают молекулярные механизмы внутриклеточной сигнализации, лежащие в основе повышения гипоксической толерантности мозга. Недавно на крысах, подвергнутых ЗУГГ, нами показана положительная динамика фосфорилирования одного из ключевых активаторов нейропротективного сигнального каскада – протеинкиназы *B* (Akt). По ряду данных указывается взаимосвязь между активацией этой киназы и уровня одного из известных супрессоров эксайтотоксичности нейропептида *Y* (NPY). Ранее нашими коллегами обнаружено стойкое многодневное повышение экспрессия NPY в гиппокампе монгольских песчанок, специфичное для последствий ЗУГГ (Duschick et al. 2009). В настоящей работе мы совместили иммуноцитохимическое исследование экспрессии Akt (panAkt, pAkt-ser473 и pAkt-thr308) и NPY в гиппокампе и неокортексе монгольских песчанок, предварительно (за 2 и 4 дня) подвергнутых процедуре ЗУГГ.

Ранее отмеченная в гиппокампе повышенная экспрессия NPY была обнаружена и в неокортексе при обоих сроках. Повышенное фосфорилирование Akt по обоим сайтам (более выраженное для pAkt-thr308) отмечено в неокортексе лишь на 2-дневном сроке. В зубчатой извилине гиппокампа изменения имели ту же направленность, но сопровождалась снижением нефосфорилированной формы Akt. В Амоновом роге гиппокампа активации Akt на указанных сроках не отмечена, так как, очевидно, завершилась на более раннем этапе, что соответствует нашим недавними исследованиям на крысах.

Полученные данные позволяют предположить последовательную активацию белковых участников нейропротективного сигналинга, инициируемого умеренной гипобарической гипоксией в различных участках мозга.

*Беляков Александр Витальевич
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: belyakov07@gmail.com*

ХРОНИЧЕСКОЕ НЕОНАТАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ
С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АРГИНИН–ВАЗОПРЕССИНА АС-D-SPRG
ДЕТЕНЬШАМ БЕЛЫХ КРЫС ПРИВОДИТ К СНИЖЕНИЮ
ДЕПРЕССИВНОСТИ В ВОЗРАСТЕ 35 ДНЕЙ

А. С. Белякова, О. Г. Воскресенская, В. П. Голубович*, А. А. Каменский

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

**Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

Нейротропное действие аргинин–вазопрессина (АВП), его фрагментов и их аналогов было продемонстрировано в различных поведенческих тестах на животных различных видов и в настоящее время не вызывает сомнения. Обнаружено, что продукты протеолиза АВП могут проявлять высокую поведенческую активность. Под действием пептидаз АВП распадается в организме на несколько линейных фрагментов, включающих в себя с 4-го по 9-й аминокислотные остатки. Эти метаболиты обладают нейротропной активностью, которая не уступает, а зачастую и превосходит активность целой молекулы АВП в отношении стимуляции поведения, улучшения обучения и памяти. На основании данных конформационного анализа был синтезирован тетрапептид *N*-Ас-D-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (Ас-D-SPRG). Данная работа была посвящена изучению отставленных эффектов интраназального введения оригинального структурного аналога фрагмента аргинин–вазопрессина (6–9) – Ас-D-SPRG – депрессивные составляющие поведения белых крыс. Препарат вводили детенышам обоего пола с 3 по 7 дни жизни в дозах 1,0 и 10,0 мкг/кг в объеме 1 мл/10 г массы тела. Влияние пептида на депрессивность животных оценивали на 35-й день жизни с использованием стандартной методики принудительного плавания по Порсолту. В тесте «принудительное плавание» животные, получавшие препарат в дозе 1,0 мкг/кг, продемонстрировали снижение депрессивности. Это выразилось в увеличении времени наступления первого периода иммобилизации и, соответственно, уменьшении количества периодов иммобилизации. Значительных различий в поведении детенышей разного пола выявлено не было. Животные, получавшие препарат в дозе 10,0 мкг/кг, также продемонстрировали снижение депрессивности. Введение препарата оказало влияние практически на все параметры, регистрируемые в тесте. Тетрапептид оказывал более существенное влияние на поведение детенышей мужского пола. Полученные результаты указывают на то, что раннее постнатальное введение оригинального структурного аналога фрагмента аргинин–вазопрессина (6–9) Ас-D-SPRG в дозах 1,0 и 10,0 мкг/кг оказывает длительное положительное влияние на поведенческую адаптацию и снижает депрессивность животных в выбранных условиях. Данный эффект наблюдается на 35-й день жизни крысят, что подтверждает факт длительного сохранения действия препарата после хронического введения в первые дни жизни и позволяет предположить его влияние на процессы онтогенеза нервной системы.

*Белякова Александра Сергеевна
МГУ им. М.В. Ломоносова
119234 Москва, Ленинские горы, 1/12
E-mail: alixletter@yandex.ru*

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МОЗЖЕЧКЕ
ПРИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

И.С. Бокша, Г.Ш. Бурбаева, О.К. Савушкина, Е.Б. Терешкина,
Т.А. Прохорова, Е.А. Воробьева

*Научный центр психического здоровья РАМН
Москва*

Исследования уровня ферментов глутаматного, ГАМК- и энергетического метаболизма в мозжечке при болезни Альцгеймера (БА) ранее не проводились. Методом ECL-Вестерн-иммуноблоттинга оценено количество активируемой фосфатом глутаминазы (ФАГ), двух изоформ глутаматдекарбоксилазы (ГДК), а также глутаматдегидрогеназы (ГДГ), белка, подобного глутаминсинтетазе (ГСПБ), и фермента энергетического метаболизма – мозговой изоформы креатинфосфокиназы (КФК) в белковых экстрактах аутопсийных образцов коры мозжечка, полученных от 13 больных БА и 13 контрольных случаев (группы уравнены по возрасту, длительности постмортального интервала и количеству представителей обоих полов). При сравнении нейрохимических параметров в группах и поиске корреляций использованы методы непараметрической статистики (*U*-тест Манна-Уитни, корреляции Спирмена). Достоверно сниженное количество ФАГ, обоих изоферментов ГДК, измененные корреляционные связи между уровнями ГДГ, ГСПБ и этих ферментов, а также достоверно сниженное количество КФК в мозжечке при БА свидетельствуют о выраженных изменениях метаболизма нейромедиаторов глутамата и ГАМК, а также энергетических процессов в этой структуре мозга. Учитывая современные представления об участии мозжечка в процессах формирования памяти и обучения можно предположить, что обнаруженные нейрохимические изменения в этой структуре играют важную роль в нарушениях памяти и когнитивных функций при БА.

*Бокша Ирина Сергеевна
Научный центр психического здоровья РАМН
115522 Москва, Каширское шоссе, 34
E-mail: neurochem06@mail.ru*

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ОТСРОЧЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ГИПОКСИИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

И. П. Буткевич, В. А. Михайленко, В. А. Отеллин

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

Ранее мы обнаружили негативное влияние отдаленных последствий нормобарической гипоксии на показатели болевого и психоэмоционального поведения у крыс. Цель настоящей работы состояла в исследовании возможной коррекции нарушений у крыс, достигших подросткового периода развития, которые в новорожденном состоянии были подвергнуты гипоксии. Крысята в возрасте двух дней были разделены на группы: подопытные крысята (введение агониста 5-HT_{1A} рецепторов буспирона или физиологического раствора) с последующим воздействием гипоксии (8% кислорода в дыхательной азотнокислородной газовой смеси) в барокамере в течение 60 мин и контрольные крысята (введение буспирона или физиологического раствора) без последующего воздействия гипоксии. Ежедневные инъекции буспирона или физиологического раствора продолжали в течение 14 дней, начиная с двухдневного возраста. Эксперименты были поставлены на животных, достигших подросткового периода развития (25 дней). У всех крыс исследовали влияние гипоксии на показатели пролонгированного болевого ответа при воспалении, вызванного инъекцией 2.5% раствора формалина в подошву задней конечности. Через 24 часа после формалинового теста все животные были подвергнуты тесту принудительного плавания (тест Порсолта). Обнаружено, что влияние гипоксии проявилось в усилении второй тонической фазы ответа как в увеличении числа паттернов сгибания+встряхивания ($p=0.005$ и $p=0.0001$), так и в продолжительности паттернов вылизывания ($p=0.01$ и $p=0.0001$) у самцов и у самок соответственно. В тесте принудительного плавания влияние гипоксии проявилось в увеличении времени иммобильности как у самцов ($p=0.01$), так и у самок ($p=0.049$). Хронические инъекции буспирона снизили влияние гипоксии во вторую тоническую фазу, что проявилось в уменьшении числа паттернов сгибания+встряхивания ($p=0.0001$ у самцов и самок) и продолжительности паттернов вылизывания ($p=0.03$ у самцов и $p=0.002$ у самок) по сравнению с этими показателями у крысят, подвергнутых действию гипоксии и физиологического раствора. В тесте принудительного плавания хронические инъекции буспирона у крыс, подвергавшихся гипоксии, вызвали уменьшение времени иммобильности по сравнению с этим показателем у животных, испытывавших действие гипоксии и физиологического раствора ($p \leq 0.05$ у крыс обоего пола). Таким образом, хронические инъекции буспирона позволили скорректировать нарушения в тонической ноцицептивной и психоэмоциональной системах у крыс, которые в новорожденном состоянии были подвергнуты гипоксии.

*Буткевич Ирина Павловна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: irinabutkevich@yandex.ru*

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ ВЫЗЫВАЕТ ПОВЫШЕНИЕ АКТИВНОСТИ
КАСПАЗЫ-3 И НАРУШЕНИЕ МЕЖНЕЙРОННОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
В МОЗГЕ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Д. С. Васильев, Н. Л. Туманова, И. А. Журавин

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

Известно, что воздействие неблагоприятных факторов среды в период эмбриогенеза нарушает миграцию нейробластов в кортикальную пластинку, вызывая усиление элиминации клеток в раннем постнатальном онтогенезе. Предполагается что такое повышение клеточной элиминации в свою очередь способствует нарушению межнейронного взаимодействия в кортикальных отделах мозга взрослых животных. На модели пренатальной гипоксии (E14, 7% O₂, 3 часа) нами показано повышение активности и содержания каспазы-3 в ткани кортикальных отделов мозга (теменная кора, гиппокамп) в период клеточной элиминации и синаптогенеза (P20–30). В этот период, но не на взрослой стадии, у перенесших пренатальную гипоксию крысят отмечалось изменение клеточного состава и снижение количества пирамидных нейронов. При этом гибели клеток и выраженных нейродегенеративных изменений в ткани мозга взрослых крыс после данной пренатальной патологии не наблюдалось. Известно, что повышение активности каспаз в пре- и пост-синаптических терминалях способно вызывать деградацию синапс-ассоциированных белков, что нарушает функционирование синапса и может приводить к деградации межнейронных контактов без гибели самих нервных клеток. Одним из специфических актин-связанных белков – маркеров способных менять форму и размер головок лабильных шипиков, является синаптоподин. У взрослых крыс, перенесших гипоксию на E14, выявлено снижение количества лабильных синаптоподин-позитивных дендритных шипиков в мозге, сопровождающееся снижением способности к обучению и запоминанию. Снижение шипик-опосредованной пластичности в кортикальных отделах мозга может быть причиной когнитивного дефицита. Анализ содержания и распределения белков-переносчиков медиаторов выявил снижение относительно контроля количества холинергических терминалей, иннервирующих пирамидные нейроны новой коры, а также повышение активности глутаматергических терминалей в гиппокампе. Полученные результаты могут указывать на комплексные изменения регуляции медиации различной модальности и функциональных свойств нейронных сетей в кортикальных отделах головного мозга при патологии формирования нервной системы в эмбриогенезе млекопитающих.

Поддержано Программой РАН «Фундаментальные науки – медицине», РФФИ (проекты 12-04-32281, 13-04-00388).

*Васильев Дмитрий Сергеевич
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза 44
E-mail: dvasilyev@bk.ru*

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ КАСКАДЫ РЕГУЛЯЦИИ СИНАПТИЧЕСКОГО ЭКЗОЦИТОЗА ГЛИЦИНА

Н. П. Веселкин, О. А. Карамян, Н. М. Чмыхова

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

Исследованы начальные звенья метаболических каскадов реализации тормозных влияний metabotropic глутаматных рецепторов III группы и ГАМК_B рецепторов (мГлуР_{III} и ГАМК_BР соответственно) на миниатюрную глицинергическую активность мотонейронов изолированного спинного мозга лягушки *Rana ridibunda*. Избирательные агонисты ГАМК_BР (баклофен) и мГлуР_{III} (LAP4) тормозят миниатюрную глицинергическую активность, снижая её частоту на $48.0 \pm 5.55\%$ ($n=8$) и $48.5 \pm 8.58\%$ ($n=5$), соответственно. Амплитуда миниатюрных потенциалов не изменяется, что свидетельствует о пресинаптическом механизме модуляции синаптической передачи.

В исследовании метаболических каскадов, реализующих влияние metabotropic рецепторов на процесс выделения глицина из пресинаптического окончания, проводились аппликации агонистов metabotropic рецепторов в условиях избирательной блокады предполагаемых звеньев модуляции синаптической передачи. Показано, что влияния мГлуР_{III} иницируются негативной связью с аденилатциклазой (АС), а следующим этапом является протеинкиназа А (РКА), так как на фоне действия соответствующих им селективных блокаторов SQ22536 и H-89 практически отсутствует эффект активации мГлуР_{III} их агонистом.

В осуществлении влияний ГАМК_BР на миниатюрную глицинергическую активность не участвует АС, так как блокатор АС – SQ22536 не изменяет тормозного эффекта баклофена. Влияния ГАМК_BР обеспечиваются негативной связью с фосфолипазой С (PLC), так как предварительная блокада PLC (блокатор – U73122) предотвращает эффект аппликации баклофена. Однако следующий возможный кандидат для этого пути – протеинкиназа С (PKC) не участвует в реализации влияний ГАМК_BР, так как блокатор PKC (GF 109302X) не влияет на эффект баклофена.

Общим этапом реализации влияний мГлу Р_{III} и ГАМК_BР на миниатюрную глицинергическую активность являются рецепторы инозитолтрифосфата (IP₃R), регулирующие выход кальция из внутриклеточных депо и, по литературным данным, связанные как с РКА или с сАМР, так и с PLC. В наших экспериментах антагонист IP₃R – 2APB тормозит миниатюрную глицинергическую активность на $26 \pm 8\%$ ($n=7$) и предотвращает тормозные эффекты аппликации агонистов и мГлуР_{III}, и ГАМК_BР. Очевидно, на этом этапе реализации влияний мГлуР_{III} и ГАМК_BР происходит их коллизия и взаимодействие (cross-talk), показанное нами ранее.

*Веселкин Николай Петрович
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза 44
E-mail: npv@iephb.ru*

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ
НА ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ НЕЙРОГЕНЕЗА *NeuroD* И НЕСТИНА
В ГИППОКАМПЕ КРЫС

О. В. Ветровой, Т. С. Глущенко, Е. А. Рыбникова

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

Иммуногистохимическим методом изучали экспрессию нестина и *NeuroD* в зубчатой извилине (ЗИ) гиппокампа крыс линии Вистар. Эксперименты проведены на 9 группах крыс: 1) контроль; 2) тяжелая гипоксия (ТГ) (180 мм рт. ст., 3 часа); 3), 4), 5) одно-, трех- и шестикратное прекодиционирующее воздействие (ПК) (360 мм рт. ст., 2 часа с интервалом 24 часа); 6), 7), 8) одно-, трех- и шестикратное ПК+ТГ; 9) ТГ+ три сеанса посткодиционирования умеренной гипобарической гипоксией с интервалом 24 часа (ТГ+3ПостК). Отбор материала производили через 3 и 24 часа после указанных воздействий.

Через 3 и 24 часа после ТГ наблюдается устойчивая ап-регуляция экспрессии *NeuroD* (600% от контроля), что указывает на включение регенеративных механизмов. Сходная картина наблюдается при предъявлении однократного ПК и последующей ТГ. Через 24 часа после окончания ТГ в группе 3ПК+ТГ количество интенсивно экспрессирующих клеток составляет 1800%, а в группе 6ПК+ТГ – 1300% от контроля. Сеансы трех- и шестикратного (но не однократного) ПК без последующей ТГ приводят к достоверному увеличению количества *NeuroD* (до 1000%) в ЗИ через 3 и 24 часа после окончания воздействия. Эти данные позволяют предположить, что трех- и шестикратное прекодиционирование умеренной гипобарической гипоксией способно усиливать процесс нейрогенеза в гиппокампе, тем самым оказывая нейропротективное действие. Увеличение иммунореактивности к *NeuroD* в гиппокампе животных, переживших ТГ+ПостК, составило 550% от контроля.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00532).

*Ветровой Олег Васильевич
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: vov210292@yandex.ru*

МОДИФИКАЦИЯ АКТИВНОСТИ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ
КРЫС, ПЕРЕЖИВШИХ ГИПОКСИЧЕСКИЙ И ДЕКСАМЕТАЗОНОВЫЙ
СТРЕСС НА РАЗНЫХ СРОКАХ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

О. В. Ветровой, Е. И. Тюлькова

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

Иммуногистохимическим методом исследовали экспрессию кортиколиберина, глюко- (ГР) и минералокортикоидных (МР) рецепторов в различных образованиях мозга трехмесячных самцов крыс линии Вистар, подвергавшихся тяжелой гипобарической гипоксии или воздействию дексаметазоном на 14–16-е или 17–19-е сутки пренатального развития.

В СА1 поле гиппокампа крыс всех экспериментальных групп снижена экспрессия кортиколиберина, ГР и МР по сравнению с контрольной группой. В зубчатой извилине гиппокампа крыс, переживших воздействие дексаметазоном на 17–19-е сутки пренатального развития, обнаружено снижение экспрессии ГР относительно контроля. Во втором слое неокортекса (Нео2) крыс той же группы наблюдается повышение экспрессии кортиколиберина до 400% от контроля и снижение иммунореактивности к ГР. Падение экспрессии ГР в Нео2 также характерно для крыс, переживших гипоксию на 14–16-е сутки пренатального развития. В пятом слое неокортекса (Нео5) крыс, подвергавшихся воздействию тяжелой гипоксией на 14–16-е и 17–19-е сутки и дексаметазоном на 17–19-е сутки пренатального развития, выявлено снижение экспрессии ГР и МР.

Таким образом, пренатальная гипоксия приводит к длительным изменениям активности нейроэндокринной системы крыс, различающимся в зависимости от времени предъявления патологического воздействия. Эти эффекты частично воспроизводятся при воздействии дексаметазоном, что позволяет предположить, что важную роль в патогенезе пренатальной гипоксии может играть гормональный ответ матери.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00812).

*Ветровой Олег Васильевич
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: vov210292@yandex.ru*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОРТЕКСИНА И ПИРАЦЕТАМА В КОРРЕКЦИИ
НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ ЛЕГКИХ
ПРИ ДИСФУНКЦИИ ДОРСАЛЬНОГО ГИППОКАМПА

Е. В. Волкова, С. А. Лукина

Ижевская государственная медицинская академия

Гиппокамп играет важную роль в организации мотивационных, эмоциональных реакций организма, а также в обеспечении регуляции висцеральных функций. Гиппокамп – одна из наиболее чувствительных к стрессорным воздействиям структур, дисфункция которой в условиях церебральной патологии может вызвать развитие висцеропатий. Установлена высокая частота легочных осложнений при нейропатологических процессах. Включение в комплексную терапию заболеваний мозга нейропротективных и ноотропных препаратов направлено на восстановление церебральных функций и устранение дизрегуляторных висцеропатий. Цель исследования – изучение эффективности кортексина и пирацетама в коррекции нарушений метаболических функций легких при активации дорсального гиппокампа. Опыты выполнены на 70 белых нелинейных крысах-самцах, в том числе ложнопериоперированных, с имплантацией 1 мг кобальта в область дорсального гиппокампа (НР), а также в сочетании активации НР с ежедневным внутривентральным введением кортексина (1 мг/кг) или пирацетама (400 мг/кг). На 10-й день исследовали фосфолипидный состав, поверхностную активность сурфактанта, кровенаполнение, водный баланс и гемостатическую функцию легких по тестам АЧТВ, ПВ. Установлено, что при активации НР наблюдались гипергидратация легких, уменьшение их кровенаполнения. При введении препаратов, в большей степени на фоне пирацетама, наблюдалась положительная динамика: восстанавливались показатели общей и экстраваскулярной жидкости, увеличивалось кровенаполнение. Поверхностно-активные свойства сурфактанта, сниженные в условиях активации НР, на фоне препаратов частично восстанавливались: оптимизировалось поверхностное натяжение (ПН) статическое, ПН минимальное оставалось выше контрольных значений в обеих группах ($p < 0,001$). Явления гиперкоагуляции крови в системном и легочном кровотоке, выявленные при дисфункции НР, на фоне введения кортексина и пирацетама сохранялись ($p < 0,001$).

Таким образом, введение кортексина и пирацетама приводит к оптимизации водного баланса легких, измененного в условиях активации НР, не оказывая существенного влияния на поверхностную активность и гемостазконтролирующую функцию легких.

Е. В. Волкова

Ижевская государственная медицинская академия

426034 Ижевск, ул. Коммунаров, 281

E-mail: volcs-forever@mail.ru

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
В АВТОНОМНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ
НЕЙРОТОКСИНА 6-ГИДРОКСИДОФАМИНА

Д. Н. Воронков, О. В. Сальникова, Р. М. Худоерков, С. В. Савельев*

Научный центр неврологии РАМН

**Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН*

Москва

Согласно гипотезе периферического возникновения болезни Паркинсона, нейродегенеративный процесс начинается с периферической нервной системы (ПНС), задолго до поражения черной субстанции головного мозга, что подтверждается клинически нарушениями саливации, вегето-сосудистой регуляции и функций желудочно-кишечного тракта на додвигательных стадиях заболевания. Целью работы была оценка течения нейродегенеративного процесса в ПНС под действием 6-гидроксидофамина (6-ОНДА), избирательно повреждающего катехоламинергические нейроны. Нейродегенерацию моделировали внутривенным введением крысам 6-ОНДА, в дозе 80 мг/кг. Через 35 дней после введения в ганглиях чревного и брыжеечного сплетений и иннервируемых ими структурах иммуногистохимически оценивали локализацию нейронального маркера – нейроспецифической енолазы (NSE) и белков, участвующих в обмене катехоламинов: тирозингидроксилазы (TH) и транспортера дофамина (DAT). Результаты сопоставляли с группой интактных животных. В группе контроля выявляли норадренергические нейроны (TH⁺ / DAT⁻ / NSE⁺) и имеющие тот же нейрохимический профиль нервные сплетения стенок сосудов, входящие в состав нервно-сосудистых пучков волокон, нервные окончания в паренхиме поджелудочной железы и стенке кишечника. В панкреатических островках также выявляли NSE позитивные клетки. Введение 6-ОНДА приводило к реактивному глиозу, снижению количества и размеров нейронов и уменьшению экспрессии TH в ганглиях. Отмечали дегенерацию TH позитивных волокон в составе нервных стволов, и резкое снижение числа тонких нервных окончаний, иннервирующих поджелудочную железу. Количественное морфометрическое исследование показало, что экспрессия исследуемых белков в поджелудочной железе резко уменьшалась. Число NSE⁺ клеток панкреатических островков, и размеры самих островков также значительно снижались.

Таким образом, системное введение нейротоксина 6-ОНДА вызывало дегенерацию норадренергических нейронов чревного и брыжеечного сплетений, что приводило не только к нарушениям иннервации внутренних органов, но и изменениям не нейрональных клеточных элементов.

Работа поддержана грантом АНО Институт биомедицинских проблем.

*Воронков Дмитрий Николаевич
Лаборатория функциональной морфохимии
Научный центр неврологии РАМН
105064 Москва, пер.Обуха, 5
E-mail: neurolab@yandex.ru*

ОТСТАВЛЕННЫЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО
НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА
АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА ДЕТЕНЬШАМ БЕЛЫХ КРЫС

О. Г. Воскресенская, А. П. Ильинская, А. П. Дударёнок,
В. П. Голубович*, А. А. Каменский

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

**Институт биоорганической химии НАН Беларуси*

Минск, Беларусь

В нашей лаборатории давно ведется изучение ноотропных эффектов аргинин-вазопрессина (АВП) и его структурных аналогов, синтезированных в Институте биоорганической химии НАН Беларуси на базе С-концевого фрагмента АВП. Впервые исследование влияния острого введения АВП(6–9) было проведено нами в 2012 г. (показано анксиолитическое и ноотропное действие тетрапептида, зависящее от дозы и времени введения препарата).

Следующим этапом нашей работы стало исследование отставленных эффектов неонатального введения АВП(6–9). Каждый выводок делили на две группы: опытную и контрольную. Детенышам опытной группы вводили АВП(6–9) интраназально в водном растворе в дозах 1 и 10 *мкг/кг* в объеме 1 *мл/10 г* массы тела с 3-го по 7-ой дни жизни (контрольным детенышам вводили эквивалентный объем дистиллированной воды). Тестирование проводили в 3-х возрастных группах: 1) 35–39-й дни жизни (препубертатный период), 2) 49–53-й дни жизни (период полового созревания), 3) 63–67-й дни жизни (взрослые половозрелые животные). Опыты проводились с соблюдением всех биоэтических норм.

Исследование в тесте «открытое поле» показало увеличение пробега и числа отходов от стенки и выходов в центр арены. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдалось достоверное увеличение времени, проведенного на свету, количества выходов на светлый рукав лабиринта и количества свешиваний со светлого рукава. При обучении крыс с положительным и отрицательным подкреплением у крыс опытной группы выявлено увеличение выполненных реакций как на 3-й и 4-й дни обучения, так и при проверке сохранения навыка.

Наблюдаемые изменения свидетельствуют о повышении уровня ОИР, снижении уровня тревожности, а также улучшении обучения как с положительным, так и с отрицательным подкреплением у крыс, получавших АВП(6–9): в дозе 10 *мкг/кг* (для первой возрастной группы) и в обеих дозах – для двух других возрастных групп (эффект более выражен при введении в дозе 10 *мкг/кг*).

Таким образом, можно считать, что АВП(6–9) при хроническом неонатальном введении оказывает отставленное анксиолитическое и ноотропное действие.

*Воскресенская Ольга Георгиевна
МГУ им. М.В. Ломоносова
119234 Москва, Ленинские горы, 1/12
E-mail: voskresenskaya05@mail.ru*

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НИЖНИХ БУГРОВ ЧЕТВЕРОХОЛМИЯ КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ

А. С. Гагарская¹, Л. С. Никитина^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург

Целью работы было изучение нейрохимических особенностей нижних бугров четверохолмия (НБЧ) крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ), предрасположенных к аудиогенной эпилепсии. Известно, что дефицит ГАМК-зависимых тормозных механизмов в НБЧ является одним из ключевых механизмов развития наследственной аудиогенной эпилепсии. Согласно данным литературы экспрессия фермента синтеза ГАМК глутамат декарбоксилазы GAD67 в нейронах коры больших полушарий регулируется, в том числе, NMDA-рецепторами, содержащими NR2B субъединицу. С другой стороны, показано, что NMDA-рецепторы, содержащие NR2B, активируют ERK1/2-каскад. Кроме того, на трансгенных мышах показана важная роль ERK1/2-киназы и белков экзоцитоза, (SNAP25, синапсин) в формировании судорожной активности. Внутриклеточные механизмы регуляции медиаторных систем НБЧ крыс линии КМ практически не изучены.

Межлинейные различия в экспрессии основных белков ГАМК- и глутаматергической систем, а также киназы ERK1/2-каскада и белков экзоцитоза в НБЧ крыс линии КМ и крыс линии Вистар были проанализированы с помощью иммуногистохимического метода и вестерн-блоттинга. Мы показали, уменьшение содержания везикулярного транспортера глутамата VGlut2, а также NR2B в НБЧ крыс линии КМ, что свидетельствует о сниженной активности глутаматергической системы НБЧ крыс линии КМ по сравнению с линией Вистар. При этом уровень GAD65 и GAD67 в нейронах НБЧ был снижен, что свидетельствует о пониженной активности ГАМК-ергической системы НБЧ. Содержание фосфо-ERK1/2 (Thr202/Tyr204) киназы, фосфо-синапсина 1 (Ser 62/67), SNAP25 и VAMP2 в НБЧ крыс линии КМ было также снижено по сравнению с линией Вистар. Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности в формирование аудиогенной судорожной готовности у крыс линии КМ ERK1/2 сигнального каскада, белков SARE-комплекса, а также белков задействованных в функционировании ГАМК- и глутаматергических систем в НБЧ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 11-04-00648).

Гагарская Анна Сергеевна
Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
E-mail: annagagarskaya@gmail.com

СОДЕРЖАНИЕ ТИОЛОВ И СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА
В СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА
РАСТУЩИХ КРЫС

О. В. Галкина, М. О. Ахметшин, А. А. Бахтюков, Н. Д. Ещенко

Санкт-Петербургский государственный университет

Окислительный стресс может являться причиной старения, однако мало известно о его влиянии на развитие организма, особенно ЦНС. Сейчас активные формы кислорода (АФК) признаются физиологически значимыми молекулами, которые участвуют в сигналинге. Показано, что АФК могут влиять на пролиферацию и дифференциацию нейрональных предшественников. Синтез и активность антиоксидантных ферментов также изменяются в ходе созревания мозга. В работе исследовали уровень тиолов, а также состояние глутатионовой антиоксидантной системы в субклеточных фракциях полушарий головного мозга 5-, 10-, 20- и 30-дневных крыс.

Ряд сигнальных путей, регулируемых редокс состоянием клетки, запускаются изменениями в соотношении тиолов и тиолдисульфидов. Уровень общих (O-SH) и белковых (B-SH) тиоловых групп возрастал в митохондриальной фракции (MX) и фракции миелина (M) в первые 20 дней жизни. Процесс миелинизации у крыс начинается с 10-го дня после рождения, когда резко увеличивается синтез белков миелина. С 7-го по 21-й день жизни также растет и количество митохондрий, сопровождающееся ростом синтеза всех митохондриальных белков. Уровень O-SH и B-SH в цитозольной (Ц) и синаптосомальной фракциях (С) изменялся незначительно за этот период, за исключением резкого снижения белковых SH-групп в цитозоле на 10-й день. По мере роста животных количество общего глутатиона снижается в Ц и MX, в М и С наблюдается пик содержания на 20-й день. При этом уровень восстановленного глутатиона (GSH) коррелирует с уровнем общего глутатиона, тогда как содержание окисленного (GSSG) – снижается во всех фракциях. Это приводит к росту отношения GSH/GSSG к 20-му дню постнатальной жизни. Увеличение процентного содержания GSSG меняет редокс-потенциал клетки в сторону более окисленного. По мере роста животных активность глутатионпероксидазы (ГП) в MX и М увеличивается с 10-го по 30-й день, в С отмечено снижение активности. Во всех трёх фракциях наблюдается падение активности ГП на 20-й день, что согласуется с увеличением уровня GSH. Такая же тенденция к снижению активности на 20-й день постнатальной жизни отмечена для глутатионредуктазы. Активность глутатионтрансферазы увеличивается во всех исследованных фракциях головного мозга с возрастом.

*Галкина Ольга Вячеславовна
Кафедра биохимии
Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
E-mail: galkina@bio.spbu.ru*

АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ *E*
В ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ПИРАЦЕТАМА

С. С. Гамзин, А. Д. Кручинина, О. М. Григорьева

Пензенский государственный университет

Ноотропные лекарственные средства составляют особую группу нейрпсихотропных препаратов, специфический эффект которых определяется способностью улучшать процессы обучения и памяти, когнитивные, интеллектуальные функции как у здоровых лиц, так и в особенности нарушенные при различных заболеваниях. Пирацетам является исторически первым представителем группы ноотропов и до настоящего времени считается эталонным ноотропным препаратом. По химической структуре представляет собой производное пирролидона и дает начало семейству ноотропов-рацетамов. Механизм действия пирацетама окончательно не установлен. Нами предположено вовлечение пептидергических систем мозга в опосредование эффектов пирацетама. В образовании активных форм регуляторных пептидов участвуют карбоксипептидазы. Карбоксипептидаза *E* – представитель ферментов обмена регуляторных пептидов. Отщепляя остатки основных аминокислот (лиз, арг) с *C*-конца пропептидов, карбоксипептидаза *E* переводит их в биологически активную форму. Таким образом, целью данной работы было определение активности карбоксипептидазы *E* при действии пирацетама. Работа выполнена на самцах белых беспородных крыс возрастом 3 месяца и массой 200-250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде и сменной светового режима каждые 12 часов. Активность карбоксипептидазы *E* определяли флуориметрическим методом Fricker и Snyder. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью *3s*-критерия и *t*-критерия Стьюдента. Животным опытной группы в течение 14 суток интраперитонеально вводили пирацетам. Животные контрольной группы получали физиологический раствор. Через 72 часа после последней инъекции выделяли отделы головного мозга и в полученных тканях определяли активность карбоксипептидазы *E*. Установлено снижение активности фермента в гипофизе в 1,31 раза ($p < 0,01$), продолговатом мозге в 2,35 раза ($p < 0,01$), амигдале в 1,58 раза ($p < 0,01$), стриатуме в 1,72 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой животных. Таким образом, показано влияние пирацетама на активность карбоксипептидазы *E* нервной ткани крыс, что может быть одним из потенциальных механизмов реализации ноотропных эффектов пирацетама.

*Гамзин Сергей Сергеевич
Пензенский государственный университет
440026 Пенза, ул. Красная, 40
E-mail: S.S.Gamzin@ya.ru*

АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ
ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ
ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ю. М. Гармаза, Ю. И. Степанова*, Г. П. Зубрицкая,
А. Г. Кутько, Е. И. Слобожанина

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси
*Белорусская медицинская академия последипломного образования
Минск, Беларусь*

Цель работы – провести сравнительный анализ состояния антиоксидантной системы защиты эритроцитов и общей антиоксидантной активности (ОАА) плазмы крови у пациентов с инфарктом головного мозга (ИГМ) и дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП).

В работе использована периферическая кровь пациентов с диагнозами ИМ ($n=27$) и дисциркуляторная ЭП ($n=15$), а периферическая кровь здоровых доноров ($n=20$) – в качестве контрольной группы. Исследованы активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП), каталазы и уровень восстановленного глутатиона (GSH) в эритроцитах, а также ОАА плазмы крови, которую определяли с помощью “Antioxidant assay kit” (Sigma).

Известно, что наиболее важным элементом системы глутатиона является ГП, которой принадлежит основная роль в утилизации липидных гидроперекисей и перекиси водорода. Показано, что в эритроцитах исследуемых групп патологий не происходило достоверного изменения активности этого фермента, по сравнению с группой условно здоровых доноров, также как и активности СОД. Однако активность каталазы, функция которой также заключается в утилизации перекиси водорода, была существенно снижена ($p<0,001$) во всех исследуемых группах в среднем на 35–45%. В то же время, содержание GSH было достоверно снижено на 20% ($p<0,05$) только в эритроцитах пациентов с ИГМ.

Известно, что такие соединения, как α -токоферол, аскорбиновая кислота, флавоноиды и др., формируют сеть плазменных антиоксидантов, изучение которых необходимо для оценки антиоксидантного статуса организма человека *in vivo*, а также являться полезной мерой для решения вопроса о необходимости применения антиоксидантных препаратов. В данной работе обнаружено резкое снижение по сравнению с контролем ОАА плазмы крови пациентов с ИГМ и ДЭП на 80–90% ($p<0,05$) и 95–98% ($p<0,001$) соответственно.

Таким образом, состояние антиоксидантной системы эритроцитов и плазмы крови существенно различается в зависимости от этиологии заболевания. Полученные результаты указывают на нарушение баланса между антиоксидантами и прооксидантами в эритроцитах пациентов с ИГМ и ДЭП и на развитие окислительного стресса.

*Гармаза Юлия Михайловна
Институт биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси
220072, Минск, ул. Академическая, 2
E-mail: gartaza@yandex.ru*

р53-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ
ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ
НЕЙРОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

М. В. Глазова

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

В настоящее время р53 является объектом активного изучения не только как сигнальный белок апоптоза, но и как модулятор пролиферации и дифференцировки стволовых клеток. Целью нашего исследования является изучение роли р53 в регуляции MAPK- и GSK-3 β -зависимых механизмов дифференцировки нейрональных стволовых клеток. Исследования проводились на органотипической культуре гиппокампа мышей и на нейрональных стволовых клетках, изолированных из гиппокампа новорожденных мышей. Для активации р53 в среду были добавлены: nutlin-3 или tenovin (small molecule activators р53) и/или EX-527 (повышает ацетилирование р53 по Lys382 и, как результат, приводит к стабилизации и активации р53). Ингибирование р53 осуществлялось добавлением Pifithrin-alpha.

Полученные данные показали, что ингибирование р53 не изменяет уровень пролиферации НКП, а активация р53 приводит к торможению пролиферации и стимулирует дифференцировку нейрональных стволовых клеток. Анализ Pim-1 и Phb1, белков, участвующих в регуляции клеточного цикла, показал, что при активации р53 не изменяет уровень Pim-1. В отличие от Pim-1, Phb1 обладает антипролиферативной активностью и активация р53 стимулирует экспрессию Phb1, что может быть связано с остановкой клеточного цикла и выходом клеток в дифференцировку. Была проведена оценка активности ключевых членов MAPK и GSK3 β каскадов. Результаты показали, что активация р53 повышала фосфорилирование GSK3 β , а дополнительное стабилизирование ацетилирования р53 потенцировало активность GSK3 β . При активации р53 мы также показали активацию ERK1/2, а дополнительное введение EX-527 значительно усилило наблюдаемый эффект. С другой стороны, мы установили, что ингибирование р53 приводит к снижению активности ERK1/2. Полученные данные свидетельствуют, что р53 является важным фактором в регуляции нейрональной дифференцировки, что, вероятно, опосредовано белками, связанными с регуляцией клеточного цикла, такими как Pim-1 и Phb1, и напрямую связано с активацией GSK3 β и ERK1/2.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01431а).

*Глазова Маргарита Владимировна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: marglazova@gmail.com*

УЧАСТИЕ ERK1/2-КАСКАДА В РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ ВАЗОПРЕССИНА В НОРМЕ И ПРИ ДЕГИДРАТАЦИИ

Е. Л. Горбачева¹, Л. С. Никитина^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург

Целью данного исследования было изучение роли ERK1/2 сигнального каскада в регуляции базальной и стимулированной секреции вазопрессина нейронами супраоптического ядра гипоталамуса, а также участия белков SNARE-комплекса VAMP2 и SNAP25 в ERK1/2-зависимой регуляции секреции вазопрессина. В работе были использованы половозрелые мыши линии CD1. Для создания «осмотической нагрузки» животные подвергались водной депривации на фоне свободного доступа к еде в течение 30 часов. Для исследования роли ERK1/2-киназ в регуляции секреции вазопрессина контрольным и дегидратированным животным внутрибрюшинно был введен блокатор ERK1/2-киназ SL-327 в дозе 50 мг/кг или растворитель блокатора DMSO. Мы показали, что инактивации ERK1/2 сигнального каскада как в нормо- так и в гиперосмолярных условиях приводит к снижению содержания вазопрессина в плазме крови. Представленные результаты в совокупности с данными, полученными нами ранее, об активации ERK1/2-каскада при дегидратации свидетельствуют об активирующей роли ERK1/2-каскада в регуляции базальной и стимулированной секреции вазопрессина. Анализ экспрессии и распределение белков SNARE-комплекса VAMP2 и SNAP25 при инактивации ERK1/2-киназ в нормоосмолярных условиях выявил увеличение содержания VAMP2 в нейрогипофизе, при этом содержание SNAP25 не менялось. В гиперосмолярных условиях инактивация ERK1/2-киназ привела к повышению уровня VAMP2 и SNAP25 в нейрогипофизе. Накопление VAMP2 и SNAP25 в нейрогипофизе при инактивации ERK1/2-киназ свидетельствует об участии ERK1/2-киназ в реализации механизмов экзоцитоза. Таким образом, мы показали, что ERK1/2-каскад вовлечен в регуляцию базальной и стимулированной секреции вазопрессина нейронами гипоталамуса. Причем характер регуляторного действия ERK1/2-каскада на активность секреции определяется его влиянием на функциональную активность белков SNARE-комплекса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-31757).

*Горбачева Евгения Леонидовна
Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
E-mail: jengorbacheva@gmail.com*

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АКТИВАТОРНЫХ И ТОРМОЗНЫХ ПУТЕЙ В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Л.Н. Гринкевич

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

Одной из актуальных задач нейробиологии является изучение молекулярных механизмов формирования долговременной памяти и поиск путей ее улучшения. Задача осложняется многообразием регуляторных систем опосредующих действие условных, безусловных, мотивационных и других стимулов вовлеченных в обучение, а также сложностью устройства регуляторных механизмов генома. Зачастую для индукции экспрессии генов, требуется не только активация активаторных путей, но и репрессия ингибиторных, причем как на уровне транскрипционных факторов (ТФ), так и на уровне ремоделирования хроматина. В качестве модели обучения мы используем выработку рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix*. В качестве основного подхода анализируем вовлечение в формирование долговременной памяти эпигенетических процессов, вызывающих ремоделирование хроматина, а именно ацетилирование и метилирование гистонов связанных как с активацией, так и репрессией генов. Показано, что в формировании пищевой аверзии вовлекается MAP/ERK-индуцируемое ацетилирование и метилирование гистона H3. Причем метилирование индуцируется как по ингибиторному, так и активаторному сайтам. Основную роль в активации этих процессов играет медиатор серотонин, опосредующий действие ноцицептивного безусловного стимула. При этом наряду с активацией регуляторного каскада MAP/ERK, индуцирующего синаптогенез через активаторные ТФ и ремоделирование хроматина, наблюдается репрессия проапоптотической протеинкиназы *p38*, активирующей репрессорный ТФ CREB2. У ювенильных животных, неспособных к формированию данного вида долговременной памяти, в отличие от взрослых при обучении не индуцируется ни MAP/ERK, ни ацетилирование гистона H3, ни его метилирование по ингибиторному сайту. Известно, что как активаторная (серотонинергическая) так и тормозные системы поздно созревают в онтогенезе. В ЦНС моллюсков идентифицирован ингибиторный пептид FMRF-амид, вовлекаемый в ингибиторные процессы через активацию репрессорного ТФ CREB2, а также медиатор ГАМК. Таким образом, наши данные и данные других исследователей, с одной стороны, свидетельствуют о вовлечении в процессы обучения как активации, так и репрессии генов, а с другой, об активной роли процессов торможения, которые еще плохо изучены на молекулярном уровне. Их суперпозиция в конечном итоге будет определять уровень экспрессии тех или иных генов, вовлекаемых в пластические перестройки. Нарушением процессов торможения сопровождаемыми ментальными нарушениями характеризуется сложнейшее заболевание – шизофрения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 11-04-01968, №14-04-01681).

*Гринкевич Лариса Николаевна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru*

ЭКЗОГЕННЫЕ ЛИГАНДЫ НЕЙРОНАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Е. В. Гришин

*Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Москва*

Наиболее многочисленный тип нейрональных рецепторов, участвующих в передаче быстрых сигналов в нервной системе, представляет собой лиганд- или потенциал-управляемые ионные каналы, образующие класс ионотропных рецепторов. В настоящее время идентифицировано значительное количество ионотропных рецепторов, изучена их роль в передаче клеточных сигналов и в развитии различных патологий. Сегодня важной проблемой является селективная и направленная регуляция работы ионотропных рецепторов. Подобным действием обладают множество природных молекул и, прежде всего, различные компоненты природных ядов. Молекулярное разнообразие ядов в значительной мере обусловлено полипептидными компонентами, которые часто могут взаимодействовать только с определенными подтипами рецепторов. Почти все известные к настоящему времени ионотропные рецепторы являются мишенью действия пептидных токсинов.

В данной работе представлены результаты исследований пептидных компонентов природных ядов, селективно действующих на ванилоидный рецептор TRPV1, рецепторы P2X и ASIC, которые общепризнанно являются ключевыми участниками процесса генерации и передачи болевых сигналов. Новые высокоспецифичные пептиды были идентифицированы, структурно охарактеризованы и получены в эукариотической системе экспрессии. Подробно изучены их молекулярные механизмы действия и анальгетические свойства. Полученные экспериментальные данные могут послужить фундаментальной основой для разработки новых терапевтических препаратов обезболивающего действия.

*Гришин Евгений Васильевич
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
E-mail: grev@ibch.ru*

НОВЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И ЕЕ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

М. А. Грудень, В. В. Шерстнев

*Научно-исследовательский институт
нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАМН
Москва*

Загрязнение окружающей среды, урбанизация большинства стран мира, стресс привели к увеличению числа больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Одно из них – артериальная гипертензия (АГ), а также церебральные осложнения гипертонической болезни широко распространены во всем мире и приводят к инвалидизации и смертности населения и, как следствие уменьшению количества трудовых ресурсов. В связи с этим новые подходы к ранней диагностике АГ являются социально значимыми. Изучение молекулярного обеспечения системы поддержания системы кровяного давления может служить основой не только для дальнейшего исследования патогенетических механизмов, причин возникновения АГ или церебральных осложнений гипертонической болезни, но и разработки дополнительной молекулярной диагностики данных заболеваний. В работе представлены результаты иммунобиохимических исследований, проведенных с использованием ИФА и специализированных молекулярных тест-систем, изменений концентраций в крови здоровых лиц, пациентов с диагностированными АГ, гипертоническим кризом, ишемическим инсультом ключевых эндогенных факторов белковой и пептидной природы (ангиотензин II, эндотелии, атриальный натрий уретический пептид и HLDF24 пептид, белок S100b, а также аутоантитела к ним), дисбаланс метаболических систем которых приводит к длительному и стойкому повышению артериального давления (АД). Проведен сравнительный корреляционный анализ и обнаружены статистически значимые взаимосвязи между показателями содержания изучаемых биомаркеров во всех группах исследованных пациентов, а также здоровых лиц с различными категориями АД, клиническими признаками заболеваний и факторами риска их развития. Изменение концентраций изучаемых биомаркеров, вовлеченных в реализацию молекулярных механизмов системы поддержания кровяного давления может отражать дисбаланс изучаемой системы и использован для разработки новых подходов ранней диагностики АГ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РГНФ (проект 12-06-00709).

*Грудень Марина Алексеевна
НИИ нормальной физиологии
им. П.К.Анохина РАМН
125009 Москва, ул. Моховая 11, стр. 4
E-mail: mgruden@mail.ru*

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ В МЕХАНИЗМАХ
СЕЛЕКТИВНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА

Н. В. Гуляева^{1,2}, М. В. Онуфриев^{1,2}, М. Ю. Степанчиков¹, С. В. Фрейман^{1,2},
Ю. В. Моисеева¹, Н. А. Лазарева¹, И. В. Кудряшова¹, В. А. Аниол¹,
А. Ю. Иванова-Дятлова¹, А. О. Тишкина¹, А. Б. Гехт²

¹*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН*

²*Научно-практический психоневрологический центр ДЗ Москвы*

Москва

Феномен селективной чувствительности нейронов гиппокампа (ГК) к экстремальным факторам (в том числе стрессам разного типа, ишемии/гипоксии, судорожной активности) описан в многочисленных экспериментальных работах. Повышенную уязвимость нейронов ГК считают основой нейродегенеративных процессов, происходящих при различных социально значимых заболеваниях (включая эпилепсию и различные психические расстройства). Нами была высказана гипотеза о том, что одним из важнейших механизмов селективной уязвимости нейронов ГК может быть сниженная резистентность ГК к процессам нейровоспаления (НВ). На различных моделях стресса у грызунов нами было показано, что в ГК НВ более выражено, чем в неокортексе. Триггером НВ в ГК может быть аккумуляция кортикостероидов и их взаимодействие с рецепторами. Количественные и качественные различия глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов являются причиной различной динамики индуцированных бактериальным липополисахаридом НВ в дорзальном и вентральном ГК. Провоспалительный стимул в раннем возрасте у взрослых грызунов приводит к изменениям стрессреактивности, дисбалансу трофических факторов, нарушению длительной потенциации в ГК, сопровождающимся изменениями психоэмоционального статуса и ухудшением ГК-зависимой контекстуальной памяти. Однократный эпизод клонико-тонических судорог вызывает транзиторную активацию микроглии в зубчатой извилине ГК на фоне усиленной пролиферации клеток; эти события могут быть исходной причиной медленного снижения когнитивных процессов после судорожного эпизода. Таким образом, кортикостероид-зависимая активация процессов НВ в ГК при различных стрессорных воздействиях является потенциальным механизмом селективной уязвимости нейронов ГК, а также перспективной мишенью для предотвращения их дисфункции и дегенерации.

Исследование частично поддержано грантами РФФИ № 13-04-00975 и 13-04-40013-Н, программой ПРАН «Фундаментальные науки – медицине» и Программой ОФФМ РАН.

*Гуляева Наталья Валерьевна
Лаборатория функциональной
биохимии нервной системы
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
Москва 117485, ул. Бутлерова, 5а
E-mail: nata_gul@pisem.net*

АНТИТЕЛА К НЕЙРОМЕДИАТОРАМ – ВОЗМОЖНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ АДДИКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ

Т. В. Давыдова¹, Л. А. Ветрилэ¹, Т. И. Невидимова², Т. П. Ветлугина²,
В. Г. Фомина¹, И. А. Захарова¹, Е. И. Батухтина², Н. А. Бохан²

¹Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН
Москва

²Научно-исследовательский институт психического здоровья СО РАМН
Томск

Проблемы предупреждения и профилактики аддиктивного поведения представляют особый интерес в связи с ростом наркомании среди подростков и молодежи. Одним из перспективных направлений решения этой проблемы является поиск новых молекулярных маркеров для выявления предрасположенности и ранней диагностики аддиктивного поведения. Многочисленные исследования последних лет свидетельствуют о модуляции функции физиологически активных соединений, таких как нейромедиаторы, нейропептиды, гормоны специфическими антителами. Установлена тесная взаимосвязь между нарушением функции нейромедиаторных систем и индукцией аутоантител к ним при различных формах патологии ЦНС. Показана возможность образования аутоантител к нейромедиаторам (дофамину, норадреналину, серотонину) при алкоголизме и опиоидной наркомании в эксперименте и клинике. Особый интерес представляют в качестве нейроиммунных маркеров предрасположенности к аддиктивному поведению аутоантитела к нейромедиаторам. На основе иммуноферментного метода (ELISA) с использованием тест-антигенов дофамина, норадреналина и серотонина с бычьим сывороточным альбумином проведен иммунологический анализ изменений сывороточного содержания аутоантител к дофамину, норадреналину, серотонину в различные периоды развития аддиктивного поведения (наркомании, алкоголизма). Обнаружены специфические сывороточные паттерны содержания аутоантител к катехоламинам и серотонину, различающиеся в зависимости от стадии и длительности ремиссии заболевания. У пациентов, страдающих наркоманией, в стадии абстиненции и в стадии ремиссии уровень антител к дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотке крови повышен по сравнению с контрольной группой того же возраста, не имеющей контакта с психоактивными веществами. Получены данные, свидетельствующие о том, что средние уровни антител к нейромедиаторам у лиц с эпизодическим употреблением психоактивных веществ ниже, чем в контрольной группе, что имеет значение для ранней диагностики предрасположенности к психоактивным веществам, в частности, к наркотикам у лиц молодого возраста. Аутоантитела к норадреналину, дофамину и серотонину могут служить нейроиммунными маркерами предрасположенности к развитию аддиктивного поведения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РГНФ (проект 12-06-00673а).

Давыдова Татьяна Викторовна
НИИ общей патологии
и патофизиологии РАМН
125315 Москва, Балтийская ул., 8
E-mail: dav-ta@yandex.ru

РОЛЬ СЕРОТОНИНА В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ФОРМИРОВАНИЯ РЕФЛЕКСА ПИЩЕВОЙ АВЕРЗИИ У *HELIX*

А. Б. Данилова, О. В. Воробьева, Н. А. Дюжикова, Л. Н. Гринкевич

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

Одной из актуальных задач нейробиологии является изучение эпигенетических механизмов долговременной памяти. Важную роль в этих исследованиях играют животные с «простой нервной системой» в частности моллюски. В качестве модели обучения нами используется выработка условного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix*. Важнейшую роль в формировании данного рефлекса играет медиатор серотонин, опосредующий действие сенситизирующего безусловного стимула. Дисфункция серотонинергической системы введением нейротоксина 5,7-ДОТ, или антагониста серотониновых рецепторов метиотепина приводит к невозможности его формирования. Мы показали, что блокада серотониновых рецепторов метиотепином также значительно снижает индуцируемые обучением ацетилирование и метилирование гистона H3, играющих важную роль в эпигенетической регуляции и формировании долговременной памяти. В данной работе изучали прямое действие серотонина на индукцию эпигенетических процессов, для чего инкубировали ЦНС с серотонином, что имитирует сенситизацию, лежащую в основе данного рефлекса. Методом вестерн-блот анализа исследовали метилирование гистона H3 сразу после инкубации, а также спустя 1 и 20 часов в функционально различных ганглиях. Сразу после инкубации индукции метилирования гистона H3 обнаружено не было. Спустя 1 час, как и при обучении, наблюдался значительный рост метилирования гистона H3 в парието-висцеральном комплексе ганглиев (специализирован на оборонительном поведении), причем как по активаторному (лизин 4), так и ингибиторному (лизин 9) сайтам, а также его ацетилирование. Однако количественный эффект выражен слабее чем при обучении. Спустя 20 часов после обучения метилирование и ацетилирование гистона H3 снижалось к уровню контроля. Получены предварительные данные об отрицательной корреляции метилирования и ацетилирования гистона H3 с активацией проапоптотической MAP-киназы p38. Таким образом, модуляторный медиатор серотонин через активацию MAP киназы ERK (получено нами ранее) индуцирует синхронное ацетилирование и метилирование гистона H3, стимулируя выживание нейронов, и индуцирует длительные пластические изменения, вовлекаемые в формирование оборонительных рефлексов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-01681).

*Данилова Александра Борисовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: Larisa_Gr_spb@mail.ru*

АКТИВАЦИЯ ИНСУЛИНОВОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА
ВЛИЯЕТ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ
К ИНСУЛИНУ

К. В. Деркач, О. В. Чистякова, И. В. Мойсеюк, В. М. Бондарева, А. О. Шпаков

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

Инсулиновая сигнальная система мозга играет важнейшую роль в регуляции периферического метаболизма и, как полагают, может влиять на чувствительность тканей к циркулирующему в крови инсулину. В условиях диабетической патологии функциональная активность инсулиновой системы мозга снижается, что связано как со снижением уровня гормона в мозге при сахарном диабете 1-го типа (СД1), так и вследствие развития инсулиновой резистентности при сахарном диабете 2-го типа (СД2). Восстановление функциональной активности инсулиновой системы мозга в условиях СД, за счет повышения концентрации мозгового инсулина вследствие его интрацеребрального или интраназального введения, может быть одним из подходов, направленных на повышение чувствительности тканей к инсулину и восстановление периферического метаболизма. Интраназальный способ введения инсулина является неинвазивным и не требует специального оборудования. Следует отметить, что в настоящее время интраназальный инсулин (ИИ) применяется в основном для коррекции когнитивных расстройств, но не находит широкого применения при лечении СД1 и СД2. В то же время его влияние на чувствительность тканей к инсулину и периферический метаболизм практически не изучено. Цель работы состояла в изучении влияния длительного введения ИИ здоровым крысам и животным с экспериментальными моделями СД1 и СД2 на уровень глюкозы и периферического инсулина, а также на чувствительность тканей к инсулину. При длительном лечении крыс с пролонгированной моделью СД1 с помощью ИИ (суточная доза 0.48 IU/крысу, продолжительность лечения 135 дней) наблюдали значительное ослабление гипергликемии при том же уровне периферического инсулина. При лечении крыс с неонатальной моделью СД2 с помощью ИИ (0.48 IU/крысу, 35 дней) отмечали улучшение гликемического контроля, снижение уровня периферического инсулина, повышение чувствительности к нему тканей, что подтверждали тестами с глюкозной нагрузкой с введением и без введения инсулина. При длительной, 135-дневной, обработке ИИ здоровых крыс отмечали снижение уровня периферического инсулина в 2–3 раза в сравнении с контролем без изменения уровня гликемии. На основании этих данных был сделан вывод о том, что длительное введение ИИ повышает чувствительность тканей к инсулину и улучшает гликемический контроль в условиях диабетической патологии, причем в реализации этих эффектов гормона участвуют центральные механизмы, включающие инсулиновую сигнальную систему мозга.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 12-04-00434).

*Деркач Кира Викторовна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: derkatch_k@list.ru*

ИММУНИЗАЦИЯ ПЕПТИДАМИ, ПРОИЗВОДНЫМИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ
УЧАСТКОВ МЕЛАНКОРТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ 3-го И 4-го ТИПОВ,
ПРИВОДИТ К НАРУШЕНИЮ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО
СТАТУСА У КРЫС

К. В. Деркач¹, Е. А. Шпакова², О. А. Жарова³, В. М. Бондарева¹, А. О. Шпаков¹

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН*

²*Институт высокомолекулярных соединений РАН*

Санкт-Петербург

³*Филиал ООО «Тева», Ярославль*

Снижение функциональной активности меланокортиновой сигнальной системы мозга, включающей меланокортиновые рецепторы 3-го (MP3) и 4-го типов (MP4), ведет к ожирению и развитию метаболического синдрома. Мы разработали аутоиммунные модели этих заболеваний на самцах крыс Wistar с помощью длительной (12 месяцев) иммунизации животных БСА-конъюгированными пептидами, соответствующими третьей внеклеточной петле MP3 и N-концевому внеклеточному участку MP4. Такая иммунизация приводила к выработке антител, блокирующих функциональную активность MP3 и MP4. Схема иммунизации включала 8 обработок, которые проводили на первый, 30-, 60-, 90-, 190-, 300-, 320- и 400-й дни эксперимента, причем первую иммунизацию осуществляли с помощью раствора БСА-конъюгированных пептидов (20 мкг/крысу) в полном адьюванте Фрейнда, вторую и третью – введением раствора БСА-конъюгатов (20-40 мкг/крысу) в неполном адьюванте, следующие пять иммунизации – введением только одного БСА-конъюгатов (50 мкг/крысу). После окончания иммунизации у всех животных отмечали высокий титр антител к БСА-конъюгированным пептидам. Через 13 месяцев масса тела в группе крыс, иммунизированных MP4-пептидом, была достоверно выше, чем в контроле. В группе крыс, иммунизированных MP3-пептидом, масса тела, напротив, достоверно уменьшалась за счет сильного снижения мышечной массы, в то время как масса жира возрастала. У обеих групп животных отмечали в различной степени выраженную дислипидемию, на что указывало повышение у них уровней триглицеридов, общего холестерина и атерогенного холестерина, связанного с липопротеидами низкой плотности, а также снижение уровня тиреоидных гормонов, в первую очередь трийодтиронина. Показано также, что у крыс, иммунизированных MP4-пептидом, развивается инсулиновая резистентность и нарушается толерантность к глюкозе, в то время иммунизация MP3-пептидом влияет на чувствительность тканей к инсулину в меньшей степени.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 12-04-00434).

*Деркач Кира Викторовна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: alex_shpakov@list.ru*

РОЛЬ МЕЛАНКОРТИНОВОЙ СИСТЕМЫ
В РЕГУЛЯЦИИ ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ

О. В. Долотов, Д. Д. Марков, К. А. Яценко, Л. С. Иноземцева,
Л. А. Андреева, И. А. Гривенников

*Институт молекулярной генетики РАН
Москва*

Депрессия является наиболее распространенным психическим расстройством, потенциально угрожающим жизни в связи с повышенным риском суицида и наличием двунаправленных связей между депрессией и соматическими заболеваниями. Существующие в настоящее время антидепрессанты имеют в основе своих эффектов фундаментально один известный механизм действия, связанный, как считается, с повышением активности серотонергической и/или норадренергической систем мозга. Однако применяемые антидепрессанты недостаточно эффективны и переносимы для значительной части пациентов, и актуальным является поиск альтернативных фармакологических подходов к лечению депрессии. Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют как о связи между развитием депрессии и дерегуляцией иммунной системы и гиперактивацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН) оси, так и о наличии у антидепрессантов противовоспалительных и нормализующих активность ГГН оси эффектов. Ранее было показано, что активация центральных меланокортиновых рецепторов 4-го подтипа (MC4-R) является необходимой для развития ядерного симптома депрессии – ангедонии (неспособность испытывать удовольствие). Нами обнаружено, что меланокортины-агонисты MC4-R (*N*-концевые фрагменты ключевого гормона ГГН оси адренорикотропина и их аналоги) при системном введении проявляют противоположную активность, предотвращая развитие ангедонии в экспериментальных моделях депрессии, вызванной хроническим стрессом или воспалением. Кроме того, данные меланокортины нормализовали вызванные хроническим стрессом снижение массы тела, гипертрофию надпочечников и снижение уровня нейротрофического фактора мозга BDNF в гиппокампе крысы. В то же время, системное блокирование MC4-R вызывало развитие ангедонии. В совокупности, полученные данные свидетельствуют об участии меланокортиновых рецепторов циркумвентрикулярных органов в регуляции гедонистического поведения и наличии у ряда эндогенных и синтетических некортикотропных меланокортинов антидепрессантного потенциала.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01690-а).

*Долотов Олег Валентинович
Институт молекулярной генетики РАН
123182 Москва, пл. Курчатова, 2
E-mail: dolotov@img.ras.ru*

РОЛЬ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ
ПОВЫШЕННОЙ СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ
У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО–МОЛОДКИНОЙ

Н. А. Дорофеева, Е. В. Черниговская

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

В настоящее время показано участие дофамин-, ГАМК- и глутаматергической систем в формировании аудиогенной эпилепсии. Однако практически нет работ, проясняющих роль дофаминергической системы в формировании повышенной судорожной готовности. Целью настоящей работы было оценить состояние дофаминергических нейронов у крыс инбредной линии Крушинского–Молодкиной (КМ) по сравнению с крысами Вистар. Мы показали повышенную активность тирозингидроксилазы, фосфорилированной по серину-31 (сайт фосфорилирования ERK1/2) в черной субстанции крыс линии КМ, что свидетельствует об интенсивном синтезе дофамина. При этом в дофаминергических нейронах показан повышенный уровень фосфорилированных форм ERK1/2-киназ, что может указывать на их участие в активации дофаминергической системы. Однако в стриатуме, в терминальных отделах дофаминергических нейронов количество фосфотирозингидроксилазы не отличается у крыс линии КМ, что может быть вызвано нарушениями везикулярного транспорта и/или экзоцитоза. Это предположение подтверждается снижением транспортного белка кинезин в черной субстанции и одного из ключевых белков комплекса SNARE – SNAP25 в стриатуме.

У крыс линии КМ количество рецептора дофамина D1a в стриатуме увеличено. При этом содержания фосфо-ERK1/2-киназ в стриатуме тоже повышено, что, возможно, вызвано активацией D1-рецепторов. Активация ERK1/2-киназ может приводить к более интенсивной продукции глутамата. Действительно, мы выявили увеличение количества везикулярного транспортера глутамата, что указывает на активацию выведения глутамата. Кроме того, в стриатуме у крыс КМ мы наблюдаем меньшее количество D2-рецептора при неизменном уровне белков GAD65/67, ферментов синтеза ГАМК, что говорит о нарушении тормозных механизмов мозга.

Таким образом, одним из факторов формирования повышенной судорожной готовности крыс линии КМ может быть интенсивный выброс глутамата в стриатуме, при неизменной активности тормозных механизмов. Нарушение в работе дофаминергической системы может быть причиной, приводящей к дисбалансу в функционировании ГАМК- и глутаматергической систем.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№ 11-04-00648).

*Дорофеева Надежда Алексеевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: nadezhda_dor@mail.ru*

ПОСЛЕДСТВИЯ ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ КАСПАЗЫ-3 ЗАВИСЯТ ОТ СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА

Н. М. Дубровская, Д. С. Васильев, О. С. Алексеева, Д. Л. Тихонравов,
Н. Л. Туманова, И. А. Журавин

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Государственный педиатрический медицинский университет Минздрава РФ
Санкт-Петербург*

В последнее время широко обсуждается неапоптотическая роль каспазы-3, связанная с процессами нейропластичности, заключающимися в перестройках синапсов. В частности, известно, что активность этого фермента значительно увеличивается в период синаптогенеза. Ингибирование каспаз рассматривается в качестве одного из средств лечения некоторых нейродегенеративных заболеваний. Целью нашей работы являлось изучение отдаленных последствий изменения активности каспазы-3 в период раннего онтогенеза у нормальных крыс и крыс с нарушенным эмбриогенезом. Пренатальная гипоксия приводит к увеличению количества каспаза-3 позитивных нейронов и возрастанию активности этого фермента в период наиболее интенсивного синаптогенеза (P20–30) в коре и гиппокампе. При этом наблюдается изменение пластичности нервной ткани головного мозга, выражающееся в снижении количества лабильных синаптоподин-позитивных шипиков, а также нарушение процессов обучения и памяти у молодых и взрослых животных. Однократное i.c. введение ингибиторов каспазы-3 (Z-DEVD-FMK 3 нмоль/4 мкл или Ac-DEVD-CHO 15 нмоль/4 мкл) на 18–25-е сутки после рождения изменяет активность этого фермента в кортикальных структурах головного мозга в течение первых трех суток после инъекции. При этом через 1–3 суток после инъекции у животных, перенесших пренатальную гипоксию, активность каспазы-3 снижается, а у контрольных животных – увеличивается. Примечательно, что такой эффект исчезает через 1 месяц после инъекции ингибиторов и активность каспазы-3 возвращается к исходным значениям, присущим каждой из исследованных групп. В то же время у контрольных крыс ухудшается кратковременная и долговременная память на фоне неизменного содержания синаптоподина, тогда как у крыс, перенесших пренатальную гипоксию, память, напротив, улучшается, а содержание синаптоподина, свидетельствующее о количестве лабильных шипиков, возрастает. Таким образом, можно сделать вывод о том, что последствия введения ингибиторов каспазы-3 зависят от состояния организма, что необходимо учитывать при использовании лечебных препаратов, содержащих ингибиторы этого фермента.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00388) и Программой РАН «Фундаментальные науки – медицине».

*Дубровская Надежда Михайловна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: ndub@iephb.ru*

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТСТРЕССОРНЫХ СОСТОЯНИЙ

Н. А. Дюжикова, Т. Г. Зачепило, А. С. Левина, М. Б. Павлова,
Ю. Н. Савенко, Е. Б. Скоморохова, А. В. Швецов, Н. В. Ширяева,
Н. Г. Лопатина, А. И. Вайдо

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

Эпигенетические механизмы регуляции экспрессии генов в центральной нервной системе в экстремальных условиях среды интенсивно исследуются в последние годы в связи с процессами адаптации и изучением патогенеза психиатрических заболеваний. На модели для изучения влияния психоэмоционального стресса на формирование состояния, подобного посттравматическому стрессовому расстройству человека (ПТСР), или травматической памяти (двух линиях крыс с генетически-детерминированными различиями по уровню возбудимости нервной системы) показано участие метилирования ДНК, ацетилирования гистона H4, фосфорилирования и метилирования гистона H3 и межполушарная асимметрия последнего в реакции на эмоционально-болевой стресс. Особенности эпигенетических изменений в нейронах зависят от структуры мозга и функционального состояния нервной системы животных. На другом модельном объекте – медоносной пчеле (*Apis mellifera L.*) также продемонстрировано участие фосфорилирования и метилирования гистона H3 в процессе памяти в условиях стресса и их межполушарная асимметрия. Существенно установлено роли эпигенетических изменений (метилирование ДНК) в регуляции экспрессии конкретных генов, определяющих предрасположенность к развитию психопатологий и связанных с формированием реакции на стресс. Ген *grin1* кодирует ключевую NR1 субъединицу NMDA-рецептора, которому придается большое значение в детерминации нейрональной возбудимости, синаптической пластичности, реакции на стрессорные воздействия и патогенезе ряда нервно-психических заболеваний. Проведена оценка статуса метилирования одного из наиболее значимых CpG островков в промоторной области гена *grin1* в гиппокампе и костном мозге в зависимости от функционального состояния нервной системы крыс в условиях действия разных схем эмоционально-болевого стрессорного воздействия. Наряду с установлением общего эпигенетического базиса долговременных постстрессорных нарушений в мозге, выявлены тканеспецифические особенности изменения паттерна метилирования CpG островка в промоторной области гена *grin1*, зависимые от уровня возбудимости нервной системы крыс, силы и длительности стрессорного воздействия. Обсуждается значимость выявленных эпигенетических изменений для экспрессии генома в связи с функционированием мозга в норме, при развитии психопатологий и вклад индивидуальной изменчивости по возбудимости нервной системы в эти процессы.

*Дюжикова Наталья Алековна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: dyuzhikova@mail.ru*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ микроРНК ДЛЯ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ
НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ШАПЕРОНА Hsp70
В МОДЕЛИ ПАРКИНСОНИЗМА

И. В. Екимова, Д. В. Плаксина, И. В. Гужова*,
Д. А. Мешалкина*, Ю. Ф. Пастухов

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

**Институт цитологии РАН*

Санкт-Петербург

Ведущее значение в дегенерации нейронов черной субстанции (ЧС) и других структур мозга при болезни Паркинсона (БП) отводится прежде всего накоплению в клетках неправильно уложенного белка альфа-синуклеина, образующего токсичные агрегаты [Uversky, 2007; Пастухов, Чеснокова, 2010]. Функционирующая в клетках шаперонная система Heat Shock Proteins 70 kDa (HSP70) препятствует неправильной укладке белков и удерживает зрелые белки в «здоровом» конформационном состоянии. Считается, что риск развития БП значительно возрастает у людей пожилого возраста, поскольку в их нервных клетках уменьшается синтез HSP70 и вместе с ним снижается контроль качества клеточных белков [Hindle, 2010]. Результаты исследований *postmortem* тканей головного мозга пациентов с БП указывают на низкое содержание белка Hsp70 в секционном материале ЧС, что свидетельствует о вовлечении шаперонов в патогенез БП [Alvarez-Erviti et al., 2010]. Исследования, проводимые в нашей лаборатории, указывают, что увеличение содержания экзогенного Hsp70 в нейронах ЧС оказывает нейропротективный эффект в моделях паркинсонизма у крыс. Однако эти данные не дают ответа на вопрос, сопряжено ли уменьшение экспрессии и уровня эндогенного Hsp70 в нейронах ЧС с увеличением гибели дофамин(ДА)-ергических нейронов при БП.

Для ответа на вопрос на ранее разработанной модели протеасомной дисфункции nigrostriatной системы у крыс, имитирующей доклиническую стадию БП, применена технология лентивирусной трансдукции микроРНК, позволяющая локально уменьшить экспрессию и содержание Hsp70 в нейронах ЧС. С помощью иммуногистохимической методики и маркера ДА-ергических нейронов тирозин-гидроксилазы (ТГ) показано, что модель доклинической стадии БП характеризуется гибелью 25–30% ДА-ергических нейронов ЧС, тенденцией к увеличению уровня ТГ в оставшихся нейронах и отсутствием изменений в моторном поведении. Трансфекция ленти-вектором shRNA-Hsp70 нейронов ЧС приводит к снижению экспрессии основного шаперона Hsp70 в ЧС, увеличению в 1.5 раза гибели ДА-ергических нейронов ЧС и отчетливому возрастанию ТГ по сравнению с моделью доклинической стадии БП. Полученные данные указывают, что шаперон Hsp70 является ключевой молекулой, продлевающей жизнь ДА-ергических нейронов ЧС при протеасомной дисфункции nigrostriatной системы, имитирующей БП. Это имеет существенное значение для обоснования новой стратегии превентивной терапии БП, основанной на нейропротективных свойствах Hsp70.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-00478а).

Екимова Ирина Васильевна

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

E-mail: irina-ekimova@mail.ru

ИЗМЕРЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПРОПОФОЛА
В ХИАЗМАЛЬНО-СЕЛЛЯРНОЙ ОБЛАСТИ И В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ
ВЕНАХ ВО ВРЕМЯ АДЕНОМОЭКТАМИИ ГИПОФИЗА

В. А. Елохин¹, А. Ю. Елизаров²

¹ЗАО «Научные приборы»

²Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН
Санкт-Петербург

Пропофол широко используется в анестезиологической практике и внутривенно вводится в режиме инфузии по управляемой целевой концентрации (ИУЦК) пропофола в крови или в режиме быстрой внутривенной инфузии для достижения увеличения глубины анестезии. Систематические исследования фармакокинетических свойств этого препарата позволило создать программы управления скоростью инфузии пропофола в зависимости от веса и возраста пациента. Хотя пропорции между концентрацией пропофола в крови и гипнотическим эффектом при индукции анестезии хорошо изучены, объяснение причин этого эффекта остаются частично спекулятивными при отсутствии данных о времени достижения и распределения пропофола в головном мозге. Высокая растворимость пропофола в липидах позволяет ему легко проходить через гематоэнцефалический барьер, чем объясняется его быстрая терапевтическая активность. В работе производился забор крови из периферической вены и из хиазмально-селлярной области головного мозга во время аденомоэктомии гипофиза. Измерения концентрации пропофола в плазме крови выполнялись при помощи мембранного сепараторного интерфейса. Оперативная методика анализа анестетиков в плазме крови при помощи сепарации медикаментозного агента выполнена при помощи гидрофобной силиконовой мембраны, которая использовалась в интерфейсе квадрупольного масс-спектра. Забор крови был осуществлен из периферических вен. В качестве внутреннего стандарта был приготовлен раствор препарата пропофол (Fresenius-Kabi) в препарате для парентерального питания (Интралипид, Fresenius-Kabi), состав которого соответствует растворителю препарата пропофол. Были исследованы четыре пары образцов крови. В результате было получено, что концентрация пропофола в хиазмально-селлярной области была на $45\pm 3\%$ ниже, чем в периферической вене, что объясняется свойством гематоэнцефалического барьера.

*Елизаров Андрей Юрьевич
Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН
194021 Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26
E-mail: a.elizarov@mail.ioffe.ru*

НОВЫЕ АНАЛОГИ ЭСТРОГЕНОВ,
ВЛИЯЮЩИЕ НА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ,
КАК ВОЗМОЖНЫЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРЫ

Н. Д. Ещенко, О. В. Галкина, И. И. Зорина, В. М. Прокопенко,
С. Н. Морозкина*, А. Г. Шавва*

*Кафедра биохимии биологического факультета
*Кафедра химии природных соединений химического факультета
Санкт-Петербургский государственный университет*

В основе патогенеза многих нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, Альцгеймера, ишемическое поражение мозга и др., лежит интенсификация свободно-радикальных процессов. Поэтому поиск соединений, обладающих антирадикальной активностью и способных проникать через гематоэнцефалический барьер, представляется весьма актуальным. Хорошо известно, что эстрогены влияют на многие когнитивные процессы, снижают риск развития неврологических заболеваний, уменьшают гибель клеток при различных инсультах или нейротравмах, вызванных АФК-индуцированным окислительным стрессом. Нейропротекторный эффект эстрогенов и их аналогов в диапазоне концентраций от 0.1 до 50 мкМ частично может осуществляться через активацию их рецепторов, которые экспрессируются в различных регионах мозга. В дополнении к этому, показано альтернативное действие (не действующее рецепторы), вовлекающее в том числе и антиоксидантный эффект эстрогенов.

В работе проведен скрининг более 30 соединений – производных стероидных эстрогенов, синтезированных на кафедре химии природных соединений химического факультета СПбГУ (группы 6 α -; 8 α -; 13 α - и др. аналогов эстрадиола). Для выявления среди них веществ, способных тормозить процессы свободно-радикального окисления, нами использованы различные экспериментальные подходы. Антирадикальную и антиоксидантную активность определяли *in vitro* в различных модельных системах. В экспериментах *in vivo* влияние синтетических аналогов эстрадиола на интенсивность свободно-радикального окисления определяли по изменению количества продуктов перекисного окисления липидов в головном мозге и других тканях крыс. В качестве препаратов сравнения использовали ряд классических антиоксидантов и 17 α -этинилэстрадиол.

Совокупность полученных экспериментальных данных показывает перспективность возможного использования ряда синтетических аналогов эстрогенов в качестве антиоксидантных препаратов в комплексной терапии нейродегенеративных заболеваний.

*Ещенко Наталья Дмитриевна
Кафедра биохимии
Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
E-mail: natdmtr@mail.ru*

АНКСИОЛИТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ОКСИТОЦИНА И ТИРЕОЛИБЕРИНА
ПРИ СОЦИАЛЬНОМ И ФИЗИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Д. А. Жуков, Е. П. Виноградова, Н. А. Огиенко

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

Санкт-Петербург

Санкт-Петербургский государственный университет

Психотропные эффекты гормонов – актуальная проблема современной физиологии. Изучали анксиолитический эффект окситоцина и тиреолиберина (ТРГ) на самцах крыс Вистар (Рапполово, 200 г в начале эксперимента) при трёх видах стрессорного воздействия: электро-болевое раздражение в течение 5 с, 150–250 мкА; иммобилизация в пенале 20 мин; ссаживание на 30 мин в одну клетку 10 животных из двух домашних клеток – социальный стресс. Гормоны вводили интраназально в объёме по 10 мкл и 25 мкл (окситоцин и ТРГ, соответственно) в каждую ноздрю за 20 минут до начала стрессорных воздействий. Концентрация ТРГ составляла 10^{-10} ммоль, доза окситоцина составляла 0,5 мкг на крысу. Контрольные животные получали физиологический раствор в том же объёме. Таким образом, для исследования эффекта каждого гормона было сформировано по 6 групп животных по 20 особей в каждой: три типа воздействия, для каждого – группа «гормон» и группа «физраствор». Всего использовано 240 животных.

Сначала всех животных приучали к рукам экспериментатора: по 5 мин ежедневно, на протяжении 2-х недель. Затем определяли уровень тревоги с помощью приподнятого крестообразного лабиринта. Через 14 суток начинали процедуры стрессирования. Тревогу определяли через 4 часа после окончания воздействия.

Для окситоцина анксиолитический эффект был выявлен только для крыс, подвергнутых социальному стрессу. Уровень тревоги у животных, подвергнутых болевому воздействию и иммобилизации, не различался в группах «гормон» и «физраствор».

Для ТРГ анксиолитический эффект был выявлен только для крыс, подвергнутых болевому воздействию и иммобилизации. Уровень тревоги у животных, подвергнутых социальному стрессу, не различался в группах «гормон» и «физраствор».

Таким образом, оба гормона (окситоцин и ТРГ) обладают селективным анксиолитическим действием. Но окситоцин эффективен в ситуации, связанной с социальным стрессом, но не с физическим воздействием, а ТРГ, напротив, снижает тревогу только после физических воздействий, но не после социального стресса.

*Жуков Дмитрий Анатольевич
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: dazhukov0@gmail.com*

МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ПЛАСТИЧНОСТИ
НЕЙРОННЫХ СЕТЕЙ МОЗГА И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ

И. А. Журавин

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

В основе адаптации мозга к изменяющимся факторам внешней среды, а также обучения и памяти, лежат механизмы нейрональной пластичности. Нарушение этих процессов при действии патологических факторов приводит к нейродегенерации и когнитивному дефициту. Анализ действия острой гипоксии (3 часа, 7% O₂) в период эмбриогенеза крыс показал отставание в физиологическом развитии новорожденных животных, коррелирующее с нарушениями структуры нервной ткани и снижением способности к обучению в дальнейшем онтогенезе, а также со снижением числа синаптоподин-позитивных лабильных шипиков в коре и гиппокампе. В нервной ткани животных, перенесших пренатальную гипоксию, также обнаружено изменение свойств медиаторных систем и систем трансдукции сигналов, образования растворимой нейропротекторной формы ацетилхолинэстеразы, повышение содержания белка-предшественника амилоидного пептида (APP), а также снижение уровня экспрессии и активности нейропептидаз, в частности неприлизина (НЕП), являющегося основным ферментом катаболизма амилоидного пептида A β , накопление которого в ткани мозга ведет к нейродегенерации и болезни Альцгеймера. Введение ряда веществ (вальпроат натрия, эпигалакатехингаллат, иматиниб) гипоксическим животным приводило к повышению экспрессии НЕП и улучшению памяти, коррелирующего с увеличением нейрональной пластичности за счет роста числа дендритных шипиков. В коре мозга крыс, перенесших пренатальную гипоксию, также отмечалось повышение уровня экспрессии каспаз, избыточная активность которых может приводить к деградации синапс-ассоциированных белков и нарушению нейрональной пластичности. Более того, каспазы регулируют уровень экспрессии НЕП посредством расщепления цитоплазматического фрагмента APP, участвующего в транскрипции его гена, и регуляция активности каспаз может компенсировать наблюдаемую при гипоксии патологию развития и формирования когнитивных функций. Полученные нами данные открывают перспективы модуляции нейрональной пластичности с помощью фармакологической коррекции изменения экспрессии и активности протеолитических ферментов, в частности НЕП и каспаз, и снижения риска развития когнитивного дефицита.

Поддержано РФФИ (проект 13-04-00388), Программой Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине».

*Журавин Игорь Александрович
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: zhuravin@iephb.ru*

ПРОТИВОСУДОРОЖНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТАГОНИСТОВ
NMDA- И КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫХ AMPA-РЕЦЕПТОРОВ
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛОВОЙ МОДЕЛИ
СУДОРОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ

А. В. Зайцев¹, К. Х. Ким¹, Е. В. Фролова¹, В. В. Лаврентьева¹,
Е. П. Жабко¹, Н. Я. Лукомская¹, Л. Г. Магазаник^{1,2}

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

²*Санкт-Петербургский государственный университет*

Ведущую роль в инициации судорог и их распространении играет гиперактивация возбуждающих глутаматных синапсов, при этом особо отмечается вклад постсинаптических ионотропных глутаматных рецепторов NMDA- и AMPA-типов, однако значение одного из подтипов AMPA-рецепторов, проницаемых для Ca²⁺ (Ca-AMPA) до сих пор мало изучено. Также по данным литературы известно, что комбинация антагонистов NMDA- и AMPA-рецепторов дает более выраженный противосудорожный эффект при использовании существенно меньших доз препаратов, но данные о совместном использовании каналоблокаторов NMDA- и Ca-AMPA-рецепторов до сих пор фрагментарны. Целью этой работы стало изучение противосудорожного действия блокаторов Ca-AMPA-рецепторов при их индивидуальном и совместном с блокатором NMDA-рецепторов (мемантином) применении при использовании пентилентетразоловой модели эпилепсии у крыс.

Судороги у крыс вызывали внутривентрикулярным введением пентилентетразола (ПТЗ), а антагонисты Ca-AMPA-рецепторов (ИЭМ-1754 и ИЭМ-1925) в диапазоне доз от 0.1 до 10 мг/кг и мемантин (5 мг/кг) вводили внутримышечно за 30 минут до введения ПТЗ. Каждая экспериментальная группа состояла из 10 крыс. На время эксперимента крыс помещали в индивидуальные камеры из оргстекла, их поведение записывали на видеокамеру. Интенсивность судорог оценивали по модифицированной шкале Расина, также определяли длительность и латентные периоды фаз судорожного состояния в каждой экспериментальной группе.

Выявили, что оба каналоблокатора Ca-AMPA-рецепторов в исследованном диапазоне доз не способны предотвратить или ослабить генерализованные клонико-тонические судороги. Более того, при высоких дозах изучаемых препаратов смертность животных возрастала по сравнению с контролем. Комбинирование блокатора NMDA-рецепторов мемантина с блокатором Ca-AMPA-рецепторов ИЭМ-1925 или ИЭМ-1754 не привело к усилению противосудорожного действия, наблюдаемого при действии одного мемантина. Полученные результаты свидетельствуют о слабой вовлеченности Ca-AMPA-рецепторов в реализацию судорог, вызванных ПТЗ.

Работа поддержана грантами РФФИ (14-04-00413, 13-04-00224) и программами Президиума РАН № 5 и № 7.

*Зайцев Алексей Васильевич
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: aleksey_zaitsev@mail.ru*

ВЗАИМОСВЯЗЬ ХАРАКТЕРИСТИК ЛИЧНОСТИ ДЕТЕЙ
С НАРУШЕНИЕМ ПСИХИЧЕСКОГО И УМСТВЕННОГО РАЗВИТИЯ
С СОДЕРЖАНИЕМ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ
В ОРГАНИЗМЕ

О. А. Залата, Т. А. Алиева

*Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского
Симферополь, Крым*

Изучение влияния химических элементов, участвующих в обеспечении нервных процессов или известных своим нейротоксическим действием, на высшие психические функции является актуальным направлением в психофизиологических исследованиях. С помощью биомониторингового и психологического тестирования было обследовано 20 детей 6–11 лет, учащихся 0–4 классов одной из специальных школ Симферополя. Диагностическая квалификация нарушений психического развития детей осуществлялась детскими психиатрами на основе клинико-психопатологического анализа и включила различные нозологические формы (ЗПР, умственная отсталость, расстройства аутичного спектра). Методом рентген-флуоресцентной спектрофотометрии определили содержание в волосах химических элементов (Ca, Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Mo, Sr, Pb, Hg). Психоэмоциональные характеристики личности оценивали тестом «Дом–Дерево–Человек», состояние тревожности с помощью теста А.М. Прихожан. Данные обрабатывали посредством непараметрического корреляционного анализа по Спирмену. Обнаружили избыток Ca, Fe, Ni, дефицит Cu, Zn, концентрации Mn, Sr, Pb и Hg находились в пределах референтных значений. Величина коэффициента элементного дисбаланса, определяемого по степени отклонения каждого элемента от нормативных значений, показала тенденцию к гиперэлементозу ($K_{дис}=0,2$). Результаты корреляционного анализа психологических характеристик личности и содержания химических элементов в волосах позволили обнаружить ряд статистически значимых корреляций. Сравнительная оценка тропности элементов к психоэмоциональным характеристикам по числу выявленных достоверных корреляционных связей показала следующее их распределение: Sr(6)>Ca(3)>Fe, Cu, Zn, Mn, Pb, Hg (1). Плотность корреляционных связей (r) колебалась от 0,47 до 0,86 при уровне значимости ($0,01 < p < 0,007$). Наиболее «реактивной» психологической характеристикой к содержанию элементов была «незащищенность». Усиление этого качества личности отмечалось у тех детей, у которых концентрации Ca, Sr, Zn и Pb в организме были ниже. Дети с низким уровнем Ca и Sr отличались повышенной тревожностью, а с низкими концентрациями Cu чаще характеризовались склонностью к подавленному настроению (депрессивность). Таким образом, при наличии элементного дисбаланса у детей с нарушением психического и умственного развития установлена умеренная, но статистически достоверная значимость Ca, Fe, Zn, Cu, Mn, Sr, Hg, Pb и толерантность Ni для психологических характеристик личности.

*Залата Ольга Александровна
Крымский государственный медицинский
университет им. С.И. Георгиевского
295000 АР Крым, Симферополь, бульвар Ленина 5/7
E-mail: olga_zalata@mail.ru*

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ПРОЦЕССЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПАМЯТИ ДЕЙСТВИЕ ТРИПЕПТИДА ПИНЕАЛОНА

Т. Г. Зачепило¹, Н. Г. Лопатина¹, Н. И. Чалисова^{1,2}, Н. С. Линькова²,
Р. И. Халилов², В. Х. Хавинсон^{1,2}

¹*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН*
²*Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН*
Санкт-Петербург

Пинеалон – пептид, содержащий три аминокислотных остатка EDR (Glu–Asp–Arg), синтезирован в Институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН. В экспериментальных моделях в культуре ткани, долгосрочных опытах на крысах, в клинической практике были продемонстрированы нейропротекторные свойства пинеалона (Хавинсон и др., 2012). В задачу настоящей работы входило выявление особенностей действия пинеалона на функцию высших отделов ЦНС, определяющих когнитивные способности организма (обучение и память). С этой целью была использована в качестве модельного объекта медоносная пчела. Исследования последних лет (Sterkel, 2012) идентифицировали в мозге пчелы большой набор нейропептидов и показали определенное сходство между составом и функциональными характеристиками нейропептидов, кодируемых генами-ортологами, в двух таксонах – насекомых и млекопитающих. Компоненты изучаемого нами трипептида входят в состав эндогенного нейропептида оркокинина (ОК), детектируемого в мозге пчелы. В работе использовали метод образования у фиксированных пчел условного рефлекса вытягивания хоботка на обонятельный раздражитель при пищевом подкреплении (Proboscis Extension Resposn coditioning, PER). После однократной процедуры обучения у пчел через 1 *мин* (кратковременная память)/180 *мин* (долговременная память) тестировали наличие условной реакции. Пинеалон или физиологический раствор (контроль) инъецировали пчелам дорзально в торака. Результаты исследования выявили эффективность пинеалона в диапазоне концентраций 10^{-10} – 10^{-5} М. Варьируя пищевую мотивацию и таким образом получая группы пчел с низкой/высокой способностью сохранять в памяти условную реакцию, было выявлено модулирующее действие пинеалона. Пинеалон стимулировал процессы формирования кратковременной/долговременной памяти у пчел с низким условно-рефлекторным уровнем и, напротив, у пчел с высоким условно-рефлекторным уровнем ингибировал этот процесс. Проведенные исследования в совокупности с более ранними позволяют отнести пинеалон к одному из перспективных препаратов, который может быть использован для коррекции патологических состояний нервной системы.

Зачепило Татьяна Геннадьевна
Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: polosataya2@mail.ru

ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОТРОФИНА BDNF В ГИППОКАМПЕ
И НЕОКОРТЕКСЕ КРЫС ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ПОСТСТРЕССОВОГО
ТРЕВОЖНОГО СОСТОЯНИЯ И ЕГО КОРРЕКЦИИ ГИПОКСИЧЕСКИМ
ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕМ

М. Ю. Зенько, Т. С. Глущенко, Е.А. Рыбникова

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

Нейротрофин BDNF (brain-derived neurotrophic factor) играет важную роль в росте, развитии и функционировании нейронов мозга, их выживаемости, нейрональной пластичности. Кроме того, BDNF вовлекается в регуляцию таких важнейших процессов, как обучение, память, реакция на стресс; имеются сведения о роли BDNF в развитии патологий тревожно-депрессивного характера. В связи с нарастающей распространенностью тревожно-депрессивных расстройств и невысокой эффективностью фармакотерапии, очевидна необходимость уточнения патогенетических механизмов этих заболеваний и разработки новых способов их коррекции, в том числе немедикаментозных. Одним из таких эффективных способов является гипоксическое посткондиционирование, корректирующее формирование тревожного состояния и обладающее мощным анксиолитическим эффектом, причем молекулярные механизмы гипоксического посткондиционирования практически не исследованы. В связи с этим изучение возможного участия нейротрофина BDNF в формировании тревожной патологии и в ее коррекции гипоксическим посткондиционированием и являлось целью настоящей работы. Методом количественной иммуногистохимии были исследованы изменения экспрессии BDNF в гиппокампе и неокортексе крыс при развитии у них тревожного состояния в модели посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), а также после применения посткондиционирования гипобарической гипоксией (воздействие тремя сеансами умеренной гипобарической гипоксии – 360 мм рт. ст., 2 ч). Установлено, что формирование тревожной патологии сопровождается значительной редукцией содержания иммунореактивного BDNF в дорзальном (CA1) и вентральном (зубчатая извилина) гиппокампе и неокортексе, а гипоксическое посткондиционирование сопровождается стимуляцией экспрессии BDNF, как с частичным (гиппокамп), так и с полным (неокортекс) восстановлением его содержания в этих уязвимых структурах мозга. Полученные данные свидетельствуют о том, что нейротрофин BDNF играет важную роль в патогенезе тревожно-депрессивных расстройств, а нормализация его уровней – в реализации проадаптивного и нейропротективного действия гипоксического посткондиционирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00532).

*Зенько Михаил Юрьевич
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: zenkomichail@mail.ru*

РОЛЬ *NO*-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ
В ПАТОГЕНЕЗЕ ИШЕМИИ–РЕПЕРФУЗИИ МОЗГА И ПЕЧЕНИ

В. В. Зинчук, Н. Е. Максимович

*Гродненский государственный медицинский университет
Беларусь*

Взаимодействие монооксида азота (*NO*) с активными формами кислорода и образование высокотоксичных соединений (пероксинитрит и др.) ведет к развитию нитрозилирующего стресса. С другой стороны, *NO* может существенно изменять клеточный редокс-потенциал и кислородсвязывающие свойства крови. Цель исследования – изучить роль *NO*-зависимых механизмов в патогенезе ишемии–реперфузии мозга и печени.

Эксперименты на крысах с синдромом ишемия–реперфузия, проведенные с использованием исходного субстрата *NO* – *L*-аргинина, а также изолированного и сочетанного введения неселективного ингибитора *NOS* – *L*-NAME и селективных ингибиторов *nNOS* – 7-nitroindazole (7-нитроиндазол) и *iNOS* – methylisothiourea (метилизотиомочевина) выявили повреждающий эффект *NO* нейронального и макрофагального происхождения, в то время как подавление эндотелиальной продукции *NO* с помощью *L*-NAME способствует усугублению повреждения, отражая защитную роль *NO* эндотелиального происхождения.

Эксперименты выполнены на взрослых кроликах-самцах, у которых исследовали влияние ишемии (30 мин)/реперфузии (120 мин) печени на сродство гемоглобина к кислороду (*p*50), прооксидантно-антиоксидантный баланс (диеновые конъюгаты, оснований Шиффа, α -токоферол, активность каталазы) АлАТ и АсАТ крови в условиях инфузии нитроглицерина (1,5 мг/кг, *n*=8) или без нее (*n*=10). Установлено, что у кроликов инфузия нитроглицерина приводила к снижению реального показателя *p*50 печеночной венозной крови в конце реперфузии на 5 мм рт. ст. ($p<0,05$), по отношению к животным, которые нитроглицерина не получали. Одновременно наблюдалось снижение продуктов ПОЛ в плазме крови у животных, получавших нитроглицерин, а также улучшение параметров антиоксидантной защиты. Активность АлАТ и АсАТ в плазме смешанной венозной крови у животных, не получавших нитроглицерин, на 120-ой минуте реперфузии повышалась на 161,3% ($p<0,05$) и 184,8% ($p<0,05$) соответственно. У кроликов, которым проводилась инфузия препарата, активность АлАТ и АсАТ в плазме печеночной и смешанной венозной крови на протяжении ишемии–реперфузии печени существенно не изменялась.

Таким образом, *NO* при ишемии–реперфузии мозга и печени может оказывать протективное действие, причем реализация его антиоксидантного эффекта, возможно, опосредуется через кислородсвязывающие свойства крови.

*Зинчук Виктор Владимирович
Гродненский государственный
медицинский университет
Беларусь, Гродно
E-mail: zinchuk@grsmu.by*

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ И ЦИТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ АНАЛОГОВ ЭСТРОГЕНОВ В МОЗГЕ

И. И. Зорина, О. В. Галкина, Н. Д. Ещенко,
Ю. А. Власова*, Н. Ф. Аврова*

*Санкт-Петербургский государственный университет
*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

Женские половые гормоны – эстрогены (Е), помимо своей главной роли в развитии и поддержании репродуктивной системы, важны в регулировании водно-солевого баланса, кальцификации костной ткани, влияют на когнитивные процессы и защищают мозг от нейродегенеративных заболеваний. Защита мозга может быть обусловлена как активацией специфических ядерных рецепторов, так и негеномными эффектами, среди которых выделяют антиоксидантную активность (АОА). Создание аналогов Е с нейропротекторными и антиоксидантными свойствами становится актуальной задачей.

Цель работы – изучение возможных антиоксидантных и цитопротекторных свойств 2-х аналогов Е: 17 α -этинилэстрадиол (ЕЕ) и соединение № 1 (3-гидрокси-7 α -метил-6-окса-8 α -эстра-1,3,5(10)-триен-17-он). АОА исследовалась при индукции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ходе добавления в гомогенат больших полушарий мозга крыс избытка ионов железа в присутствии аскорбиновой кислоты. Ход накопления продуктов ПОЛ оценивался по результатам реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с образованием ТБК-активных продуктов (ТБК-АП). Показано, что все соединения в концентрации 1 мМ достоверно обладают АОА в данной модели ПОЛ. ЕЕ (0,63 \pm 0,06 нмоль/мг) и № 1 (0,81 \pm 0,15 нмоль/мг) снижают концентрацию ТБК-АП более чем в 2,5 раза по сравнению с уровнем ПОЛ без добавления соединений (2,17 \pm 0,33 нмоль/мг, $p < 0,05$). Также были проведены опыты на культуре нейрональной клеточной линии РС12. Клетки были преинкубированы с соединениями (10 мкМ) в течение 1 часа, а затем проводилась 2-часовая коинкубация клеток с цитотоксикантом – 0,3 мМ H₂O₂. Оценка цитотоксичности проводилась по выходу лактатдегидрогеназы из разрушенных клеток и вычислялась в процентах. Все исследуемые соединения обладают цитопротекторными свойствами. Так, ЕЕ и соединение № 1 в 2 раза снижают выход фермента из клеток при действии 0,3 мМ H₂O₂. Проявленные цитопротекторные свойства, возможно, связаны с установленной нами антиоксидантной активностью данных соединений.

*Зорина Инна Игоревна
Кафедра биохимии
Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
E-mail: carry111@yandex.ru*

РОЛЬ p53 В РЕГУЛЯЦИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ЛИНИИ РС12

Д. В. Зосен¹, Д. А. Объедков², М. В. Глазова²

¹*Санкт-Петербургский государственный университет*

²*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

Белок p53 является опухолевым супрессором, однако данные литературы свидетельствуют о том, что p53 участвует не только в апоптозе, но и экспрессируется в пролиферирующих нейронах, что может свидетельствовать о его участии в нейрональной дифференцировке. В связи с чем целью нашего исследования было изучение характера и механизмов влияния p53 в регуляции дифференцировки клеток линии РС12, которые являются широко распространенной моделью для изучения нейрональной дифференцировки. Для изучения роли p53 были проведены эксперименты с введением селективного блокатора (pifithrin-alfa (PFT)) или активатора nutlin-3. Поскольку известно, что ацетилирование p53 приводит к стабилизации его активности, в культуры добавлялся EX527 или его сочетания с PFT или nutlin-3. Результаты показали, что при введении nutlin-3 и его сочетанном введении с EX-527 значительно увеличивалась длина нейритов и повышалась экспрессия белка CRMP-2, отвечающего за рост аксонов. Полученные данные свидетельствуют о повышении процессов дифференцировки по нейрональному типу при активации p53. Была проведена оценка активности протеинкиназ GSK3b и ERK1/2, как основных известных участников нейрональной дифференцировки. Результаты показали, что активация p53 повышала фосфорилирование GSK3b, что свидетельствует об активации GSK3b-зависимого пути дифференцировки. Анализ активности ERK1/2-киназы показал, что nutlin-3 повышал активность ERK1/2, а дополнительное введение EX-527 значительно усилило наблюдаемый эффект. К тому же в культуре клеток РС12 в группах с введением nutlin-3 и при его сочетанном введении с EX527 было отмечено повышение фосфорилирования тирозингидроксилазы (ТН) по Ser31, специфическому сайту фосфорилирования для ERK1/2 и уровень фосфорилирования ТН по этому Ser31 коррелирует с уровнем синтеза катехоламинов, что свидетельствует об усилении синтеза катехоламинов. Таким образом, мы показали, что активация p53 стимулирует дифференцировку клеток РС12 по нейрональному типу опосредованно через активацию ERK1/2 и GSK3b сигнальные пути.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-04-01431-а).

*Зосен Денис Владимирович
Биологический факультет
Санкт-Петербургский государственный университет
199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9
E-mail: zosen-denis@yandex.ru*

ОТСРОЧЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ
И ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СУБЪЕДИНИЦ NMDA- И AMPA-
ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В КЛЕТКАХ СТРУКТУР МОЗГА КРЫС
ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА
В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

О. Е. Зубарева, Е. А. Вениаминова, С. В. Калеменив*,
А. П. Шварц, К. Фомалонт

*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН
*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

Инфекционные заболевания, перенесенные в критические периоды раннего онтогенеза, могут приводить к развитию когнитивных дисфункций, механизмы которых исследованы недостаточно. Целью данной работы являлось изучение отсроченных эффектов введения бактериального липополисахарида (ЛПС) крысам в течение третьей недели жизни на когнитивные функции (исследовательское поведение и память), а также экспрессию генов отдельных субъединиц NMDA (NR1, NR2A, NR2B, NR2C, NR2D) и AMPA (GluR1, GluR2) глутаматных рецепторов в клетках структур мозга крыс, вовлеченных в регуляцию когнитивных функций.

ЛПС вводили крысам-самцам Wistar внутрибрюшинно на 14, 16 и 18-е сутки жизни в умеренно пирогенной дозе 25 мкг/кг. В качестве контроля использовались животные, которым вводили апириогенный физиологический раствор, и интактные крысы. На 22-е сутки жизни тестировали поведение животных в «Открытом поле». В возрасте 26–29 дней тестировали пространственную память в водном лабиринте Морриса. На 23-е сутки у части крыс осуществляли забор структур мозга (вентрального и дорсального гиппокампа, миндалина и медиальной префронтальной коры). Содержание в их клетках мРНК субъединиц NMDA и AMPA рецепторов определяли методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Показано, что крысы, которым в течение 3-й недели жизни вводили ЛПС, отличаются нарушением исследовательского поведения в «Открытом поле», которое сопровождается снижением уровня (по сравнению с интактными животными) мРНК NR1 в миндалине, NR2A, NR2B, в дорзальном гиппокампе, и NR2B и GluR1 медиальной префронтальной коре. Результаты проведенного исследования могут быть положены в основу разработки методов лечения ЛПС-индуцированных когнитивных дисфункций.

Поддержано РФФИ (гранты № 13-04-00244, 14-04-00413) и грантом фонда Фулбрайта.

*Зубарева Ольга Евгеньевна
НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН
197376 Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12
E-mail: ZubarevaOE@mail.ru*

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БТШ70
В УСЛОВИЯХ НАРУШЕНИЯ АКТИНОВОГО КАСКАДА
У ДРОЗОФИЛЫ

П. Н. Иванова¹, Ю. Ф. Долгая, Е. А. Никитина^{1,2}

¹Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена

²Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

Санкт-Петербург

Один из ключевых каскадов, поддерживающих нейрональную пластичность, – каскад ремоделирования актинового цитоскелета. Основным регулятором ремоделирования актина является фермент LIM-киназа-1 (LIMK1). LIMK1, фосфорилируя кофилин, блокирует деполимеризацию актина, что вызывает перестройку шипиков дендритов, обеспечивая синаптическую пластичность. Компоненты актинового каскада также принимают участие в ответе клетки на тепловой шок (ТШ). Систему белков теплового шока (БТШ) рассматривают как один из ведущих факторов регуляции активности LIMK1. Семейство БТШ70 – наиболее изученное и многочисленное семейство БТШ, занимающее основное место в защите клетки при стрессорных воздействиях. БТШ70 принимает участие в поддержании структуры и обеспечении стабильности клеточных белков и в регуляции организации цитоскелета и клеточной пролиферации. БТШ70 конститутивно связывается с актином и, возможно, играет роль шаперона при сборке микротрубочек. Целью работы было изучение внутриклеточной локализации БТШ70 в условиях нарушения актинового каскада у дрозофилы. В качестве материала исследования использовали следующие линии дрозофилы: *Canton-S (CS)* – линия дикого типа и *agn^{ts3}* – мутантная линия, дефектная по синтезу LIMK1. Использование методики whole mount иммунофлюоресцентного окрашивания органов дрозофилы для конфокальной микроскопии позволило проследить локализацию БТШ70 в нервномышечных синапсах личинок данных линий. В интактном контроле и у линии CS, и у мутанта *agn^{ts3}* интенсивность окрашивания антителами к БТШ70 низкая, что свидетельствует о незначительном количестве этого белка в нормальных условиях. БТШ70 колокализуется с ядрами глиальных клеток. Для моделирования стрессорной ситуации мы применяли ТШ. Под действием ТШ у линии CS интенсивность окрашивания возрастает, т.е. увеличивается количество БТШ70 в ответ на стресс, сохраняется его локализация в глии. У мутантной линии *agn^{ts3}* после ТШ интенсивность окрашивания, а, следовательно, количество БТШ70 значительно уменьшается; локализуется данный белок преимущественно в глии. Это свидетельствует о неспособности данной линии к адаптации.

Иванова Полина Николаевна
Российский государственный
педагогический университет им. А.И. Герцена
191186 Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, 48
E-mail: ivanovapolina19@mail.ru

ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ К ДЕПРИВАЦИИ
ТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ СНИЖАЕТ СЕКРЕЦИЮ КАТЕПСИНА В
ПЕРВИЧНЫМИ НЕЙРОНАЛЬНЫМИ КУЛЬТУРАМИ

А. А. Квичанский, А. А. Яковлев, А. А. Лыжин*,
Л. Г. Хаспеков*, Н. В. Гуляева

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
**Научный центр неврологии РАМН*

Москва

Феномен прекондиционирования заключается в выработке у клеток неспецифической устойчивости к повреждающим факторам под действием недавно перенесенных воздействий меньшей интенсивности. Механизмы прекондиционирования клеток мозга остаются малоизученными. Ранее было показано, что нейроны секретируют протеиназу катепсин В (КВ) в норме, а при неблагоприятных условиях (депривация трофических факторов, ДТФ) секреция увеличивается. Мы предположили, что секреция КВ может иметь адаптивный характер и участвовать в механизмах прекондиционирования. Целью нашей работы было исследование влияния прекондиционирования на высвобождение протеиназ из клеток-зерен мозжечка (КЗМ) в первичных культурах, а также на активность внутриклеточных протеиназ.

Изучено влияние прекондиционирования КЗМ кратковременной (1 ч) ДТФ на эффекты острой эксайтотоксичности (обработка глутаматом 15 или 30 мин с последующей 5-часовой ДТФ) через сутки после прекондиционирования. Исследовали также влияние хронической эксайтотоксичности (выдерживание в культуральной среде с глутаматом в течение суток) на высвобождение протеиназ. Измеряли внеклеточные и внутриклеточные активности КВ, калпаина и каспазы-3, а также активность лактатдегидрогеназы в культуральной среде для оценки гибели клеток.

Показано, что секреция КВ клетками в культуре является не связанной с гибелью неспецифической реакцией на ДТФ и обработку глутаматом. Прекондиционирование снижает активность секретируемого КВ в модели острой эксайтотоксичности и модулирует влияние эксайтотоксичности на активность внутриклеточных протеиназ: усиливает индуцированное глутаматом снижение активности внутриклеточного КВ и предотвращает глутамат-зависимое повышение активности каспазы-3.

По-видимому, высвобождение КВ в мозге запускает механизмы адаптации. Известно, что ДТФ индуцирует аутофагию в клетках первичных нейрональных культур, а КВ является медиатором аутофагии. В связи с этим можно предположить, что прекондиционирование повышает устойчивость клеток к ДТФ, препятствуя запуску программ аутофагии и апоптозоподобной клеточной гибели (последней – за счет снижения активности каспазы-3).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-01858-а).

*Квичанский Алексей Андреевич
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5а
E-mail: al.kvichans@gmail.com*

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ
1,2-ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА НА ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЕ ЗВЕНО
РЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ЦИКЛОВ

Г. О. Керкешко, А. В. Кореневский, Ю. П. Милютин,
И. В. Залозная, А. В. Арутюнян

*Научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
Санкт-Петербург*

Экспериментальные исследования показали, что одним из наиболее ранних эффектов нейротоксических соединений различной природы на репродуктивную систему являются нарушения центрального – гипоталамо-гипофизарного звена ее регуляции (Арутюнян А. В. и соавт., 1997–2013). Предполагается, что подобные соединения в первую очередь оказывают воздействие на нейромедиаторные системы, регулирующие синтез гонадотропин-рилизинг гормона (ГнРГ) в медиальной преоптической области (МПО) гипоталамуса и его секрецию в срединном возвышении (СВ). Так, в предыдущих исследованиях было показано, что однократное введение 1,2-диметилгидразина (ДМГ), обладающего нейротоксическими свойствами, вызывает в МПО и СВ изменение содержания и суточных ритмов катехоламинов (Arutjunyan A.V., Kerkeshko G.O. et al., 2001). Важнейшая роль в регуляции синтеза ГнРГ и, в особенности, в формировании на стадии проэструса пика его секреции, служащего началом нового репродуктивного цикла, в настоящее время отводится недавно открытому пептиду киссептину (Khan A.R., Kauffman A.S., 2012). Повышение активности киссептинергических нейронов в МПО в вечерние часы проэструса совпадает с началом гиперсекреции ГнРГ и контролируемых им гонадотропинов (Smith J.T. et al., 2006). Целью настоящей работы явилось изучение влияния однократного введения ДМГ на содержание ГнРГ и киссептина в МПО и СВ гипоталамуса самок крыс на стадии проэструса в утренние часы (базовый уровень) и в вечерние часы (проэстральный пик секреции гонадотропинов). Содержание ГнРГ и киссептина в исследуемых структурах определяли методом иммуноферментного анализа. Однократное внутрибрюшинное введение ДМГ в день накануне проэструса приводило к значительному снижению содержания ГнРГ в СВ и киссептина в МПО в вечерние часы проэструса ($p < 0.05$, M-U test). Полученные данные позволяют предположить, что снижение уровня ГнРГ в СВ вызвано нейротоксическим воздействием ДМГ на киссептинергические нейроны в МПО гипоталамуса, являющиеся активаторами проэстрального пика секреции ГнРГ.

*Керкешко Глеб Олегович
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3
E-mail: gkerkeshko@yandex.ru*

КООПЕРАТИВНЫЙ СИНТЕЗ ДОФАМИНА
НЕДОФАМИНЕРГИЧЕСКИМИ НЕЙРОНАМИ СТРИАТУМА МЫШЕЙ
В НОРМЕ И ПРИ ПАРКИНСОНИЗМЕ

А. Р. Ким, Е. А. Козина, М. В. Угрюмов

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Москва*

Помимо дофаминергических нейронов, экспрессирующих оба фермента синтеза дофамина (ДА) – тирозингидроксилазу (ТГ) и декарбоксилазу ароматических аминокислот (ДАА), существуют нейроны, содержащие по одному из ферментов. L-ДОФА, образующийся из тирозина в моноферментных ТГ-содержащих нейронах, транспортируется в ДАА-содержащие нейроны, где происходит синтез ДА. Нами был обнаружен кооперативный синтез ДА моноферментными нейронами в медиобазальном гипоталамусе крыс, и высказано предположение о его наличии и в нигростриатной системе мышей, где он может являться компенсаторным процессом при болезни Паркинсона (БП).

Поэтому, целью данной работы была проверка этого предположения у мышей в норме и при моделировании досимптомной и ранней симптомной стадий БП с помощью МФТП.

Двойное иммуноцитохимическое мечение по ТГ и ДАА показало, что в стриатуме, наряду с ДА-ергическими биферментными нейронами, имеются и аксоны моноферментных нейронов, причем на обеих моделях БП число моноферментных ТГ-содержащих аксонов повышается, а ДАА-содержащих – снижается по сравнению с нормой. Более того, с помощью ПЦР была обнаружена экспрессия мРНК ТГ на модели ранней симптомной стадии БП, что может свидетельствовать о начале синтеза ТГ в нейронах стриатума.

Для получения прямого доказательства кооперативного синтеза ДА была проведена проточная инкубация слайсов стриатума мышей с лейцином (Leu) – конкурентным ингибитором мембранного переносчика L-ДОФА. Общее содержание ДА в ткани и перфузатах после инкубации с Leu уменьшилось на 50% в норме, в то время как для модели ранней симптомной стадии БП это падение составило 29%, что можно объяснить снижением уровня кооперативного синтеза из-за дегенерации биферментных нейронов. В качестве физиологического контроля специфичности ингибиторного воздействия Leu на кооперативный синтез ДА была также проведена инкубация слайсов черной субстанции (ЧС), в которой отсутствуют моноферментные нейроны. В этом случае инкубация с Leu не повлияла на уровень ДА ни в норме, ни при нейродегенерации.

Таким образом, впервые было получены доказательства кооперативного синтеза ДА в нигростриатной системе мышей в норме и при паркинсонизме.

*Ким Александр Робертович
Лаборатория нервных и нейроэндокринных регуляций
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26
E-mail: alexandrrkim@gmail.com*

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ NMDA- И КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫХ
AMPA-РЕЦЕПТОРОВ НА СУДОРОГИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ
МАКСИМАЛЬНЫМ ЭЛЕКТРОШОКОМ У КРЫС

К. Х. Ким¹, А. В. Зайцев¹, Е. В. Фролова¹, В. В. Лаврентьева¹,
Н. Я. Лукомская¹, Л. Г. Магазаник^{1,2}

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

²*Санкт-Петербургский государственный университет*

Активация ионотропных глутаматных рецепторов играет ведущую роль в инициации судорог и их распространении, однако вклад одного из подтипов, кальций-проницаемых AMPA-рецепторов (Ca-AMPA), в реализацию судорожных состояний практически не изучен. На крысах породы Вистар была использована модель максимального электрошока, при которой судороги вызывались током, подаваемым через ушные электроды. Эксперимент проводился в 2 этапа: 1) у животных определяли тип реакции на электрошок (сила тока 80 мА, длительность одиночного импульса 0.8 мс, частота импульсов – 100 Гц, длительность стимуляции 0.8 с). Животных, не отвечающих на стандартную стимуляцию полной экстензией задних конечностей, отбраковывали (менее 3% животных). 2) через сутки тестировали противосудорожное действие неконкурентных каналоблокаторов Ca-AMPA типа: ИЭМ-1754, каналоблокатора, действующего как на Ca-AMPA, так и NMDAR, ИЭМ-1925, избирательного каналоблокатора рецепторов NMDAR: ИЭМ-1921, а также совместное действие ИЭМ-1921 и ИЭМ-1925. Препараты вводили внутримышечно за 30 минут до электрошока. Тестировался эффект нескольких доз каждого блокатора на группе из 8–0 животных. Регистрировали силу судорожного припадка, латентный период до достижения полной экстензии задних конечностей, продолжительность экстензии. Вычисляли коэффициент экстензии, численно равный отношению продолжительности экстензии к ее латентному периоду. У защищенных от тонических судорог животных (без полной экстензии конечностей) проявлялись либо кратковременные клонические судороги без потери позы, либо дикий бег. Данные показатели усредняли по группам, вычислялся процент защищенных животных. Сравнение средних значений производили с помощью теста Стьюдента. Показано, что оба каналоблокатора Ca-AMPA не способны предотвратить развитие генерализованных тонических судорог, вызванных электрошоком. Комбинирование блокатора NMDA-рецепторов ИЭМ-1921 с блокатором Ca-AMPA ИЭМ-1925 не привело к усилению противосудорожного действия, наблюдаемого при действии одного ИЭМ-1921. Полученные результаты свидетельствуют о слабой вовлеченности Ca-AMPA в реализацию тонических судорог, вызванных максимальным электрошоком.

Работа поддержана грантами РФФИ (14-04-00413, 13-04-00224) и Программами Президиума РАН № 5 и № 7.

*Ким Кира Хаймуновна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: kirakim2000@gmail.com*

ФАРМАКОДИНАМИКА НООТРОПОВ: ЭФФЕКТЫ И МЕХАНИЗМЫ

Г. И. Ковалёв

*Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН
Москва*

Препараты класса ноотропов объединены общностью терапевтического действия, но характеризуются отсутствием общего молекулярного механизма действия. Будучи широко разнообразными по химической структуре, ноотропы отличаются и мишенями первичного фармакологического действия. Кроме того, особенностью пирацетама и других ноотропов долгое время являлось отсутствие экспериментальных доказательств рецепторного компонента в нейрохимическом спектре их действия. Поведенческое моделирование сниженной исследовательской активности позволило обнаружить, что мозг мышей с исходным дефицитом эффективности поведения в крестообразном лабиринте сопровождается повышенной плотностью никотиновых рецепторов в лобной коре и сниженной плотностью глутаматных NMDA-рецепторов в гиппокампе, а субхроническое введение пирацетама, фенотропила, нооглютилы, пантогама, ацефена, семакса и других ноотропов улучшало поведение и нормализовало характеристики рецепторного связывания (Ковалёв, Фирстова, 2010).

Ранее отмечалось, что специфические и неспецифические фармакологические эффекты психотропных препаратов имеют различные динамические характеристики при их реализации в клинических условиях. К первым, с медленно развивающимся после латентного периода, эффектам относят антидепрессивный, антипсихотический и ноотропный. Ко вторым, быстро проявляющимся, в том числе у здоровых лиц без психической патологии – анксиолитический, психостимулирующий и седативный.

В экспериментах по мониторингу поведенческих и рецепторных характеристик обнаружено, что спектр психофармакологического действия некоторых из ноотропных препаратов содержал как про-когнитивный, так и эмоциотропный (анксиолитический) компонент (пирацетам, фенотропил, ноопепт, семакс), тогда как нооглютил и пантогам оказывали лишь ноотропный эффект (Васильева и соавт., 2012). Изучение динамики этих составляющих в течение 14 суток показало, что специфический ноотропный эффект развивается постепенно, а неспецифический анксиолитический проявляется в течение первых суток, а затем уменьшается к концу сессии (Ковалёв и соавт., 2013). Полученные результаты полностью соответствуют клиническим наблюдениям и могут быть использованы для оптимизации лечебного процесса.

*Ковалёв Георгий Иванович
НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН
125315 Москва, ул. Балтийская, 8
E-mail: geo-kovalev@yandex.ru*

АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
ЛОКОМОТОРНОГО И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА
ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ HER2

Ю. О. Козлова¹, М. Е. Слаква², И. Г. Попович³, Д. Л. Теплый⁴, Е. Д. Бажанова¹

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН*

²*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена*

³*Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова*

Санкт-Петербург

⁴*Астраханский государственный университет*

Старение является важным этапом онтогенеза, изменяющим как морфологические и биохимические характеристики органов и тканей, так и функциональные проявления. Инволюционные нарушения наиболее значимы в нервной системе, в первую очередь страдают филогенетически молодые отделы – кора головного мозга. Потеря клеток, связанная со старением, не может не отражаться на функциональных особенностях тканей. Цель работы – исследовать психологические характеристики и локомоторную активность ускоренно стареющих мышей с повышенным канцерогенезом HER2/neu в сравнении с диким типом, линией FBV, в онтогенезе. Изучены локомоторные реакции, ориентировочно-исследовательское поведение и степень тревожности и стрессоустойчивости у молодых и старых трансгенных мышей HER2/neu в сравнении с мышами дикого типа (FBV), с помощью теста Открытое поле и Suok-теста.

В наших экспериментах поведенческая активность, характеризующая локомоторные особенности животного и ориентационно-исследовательское поведение, была достаточно высока у молодых животных дикого типа. Анализ результатов показал высокую степень стрессоустойчивости и низкую – тревожности у молодых мышей дикого типа, выявленную по многим показателям. Для старых мышей FBV характерно снижение локомоторной активности, исследовательского поведения, а также повышение тревожности.

Выявлены психологические особенности линии мышей HER2/neu. Показано, что у трансгенных мышей уровень моторных функций и ориентировочно-исследовательского поведения значительно ниже по сравнению с диким типом, и не отмечено изменений на поздних этапах онтогенеза. По своему психоэмоциональному статусу эта линия не имеет достоверных различий с животными дикого типа, включая возрастную динамику – значительная устойчивость молодых мышей и повышение напряжения вегетативной системы, тревожности на поздних этапах онтогенеза.

*Козлова Юлия Олеговна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: yulya.kozlova@mail.ru*

ДИНАМИКА ДЕГЕНЕРАЦИИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ
НИГРОСТРИАТНОЙ СИСТЕМЫ НА РАННЕЙ СИМПТОМНОЙ СТАДИИ
ПАРКИНСОНИЗМА У МЫШЕЙ

А. А. Колачева, М. В. Угрюмов

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН
Москва*

В основе патогенеза болезни Паркинсона (БП) лежит прогрессирующая дегенерация нигростриатных дофаминергических (ДА-ергических) нейронов, тела которых локализованы в черной субстанции (ЧС), а их аксоны проецируются в стриатум. Важнейшее направление терапии БП – поиск нейропротекторов, которые смогут замедлить или остановить гибель нейронов. Цель данной работы – исследование динамики дегенерации нигростриатных ДА-ергических нейронов на модели ранней клинической стадии БП у мышей для ее использования в качестве тест-системы для оценки эффективности нейропротекторов.

Воспроизведение модели ранней клинической стадии БП у мышей осуществляли четырехкратным введением специфического токсина ДА-ергических нейронов (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина, МФТП) с интервалом 2 часа в дозе 12 мг/кг.

Показано, что дегенерация тел ДА-ергических нейронов начинается через 3 часа после последней инъекции МФТП, тогда как число их аксонов уже снижено. Дегенерация тел и аксонов ДА-ергических нейронов продолжается в последующие 3 часа и далее их количество не меняется.

Оценку функционального состояния ДА-ергических нейронов осуществляли по содержанию ДА и тирозингидроксилазы (ТГ), скорость-лимитирующего фермента синтеза ДА. Содержание ДА в ЧС падает через 3 часа после последней инъекции МФТП до 25% от контроля и увеличивается к 24 часам (до 70%), а содержание ТГ в нейронах не изменяется. В стриатуме содержание ДА составляет примерно 10% от контроля на все исследуемые сроки, в то время как содержание ТГ в аксонах постепенно снижается к 12 часам после последней инъекции МФТП. Полученные данные отражают увеличение активности фермента и/или нарушение аксонального транспорта.

Для проверки эффективности применения динамики дегенерации нигростриатных ДА-ергических нейронов в качестве тест-системы использовали номифензин – ингибитор обратного захвата ДА. Введение номифензина с МФТП и отдельно МФТП приводит к снижению ДА-ергических аксонов в стриатуме через 12 часов после последней инъекции МФТП на 10 и 50% от контроля соответственно.

Таким образом, охарактеризована динамика дегенерации нигростриатных ДА-ергических нейронов и доказана возможность ее использования в качестве тест-системы для оценки эффективности потенциальных нейропротекторов.

*Колачева Анна Алексеевна
Институт биологии развития
им. Н. К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26
E-mail: annakolacheva@gmail.com*

КОРРЕКЦИЯ ПИНЕАЛОНОМ НАРУШЕННОГО В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ
СУТОЧНОГО РИТМА СОДЕРЖАНИЯ НОРАДРЕНАЛИНА
В ГИПОТАЛАМУСЕ САМОК КРЫС

А. В. Корневский, Ю. П. Милютин, И. В. Залозная,
М. Г. Степанов, А. В. Арутюнян

*Научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
Санкт-Петербург*

Изучено влияние экспериментальной гипергомоцистеинемии на суточную динамику содержания норадреналина в медиальной преоптической области гипоталамуса самок крыс, ответственной за синтез гонадотропин-рилизинг гормона. Показано, что у животных с нормальными эстральными циклами гипергомоцистеинемия приводит к нарушению формирования преовуляторного пика секреции гонадотропин-рилизинг гормона, что обусловлено изменением суточного ритма содержания норадреналина в медиальной преоптической области. Наблюдаемые изменения позволяют рассматривать их как один из важных механизмов нейротоксического действия *L*-гомоцистеина. Предпринята попытка исследовать возможные нейропротекторные эффекты в этих условиях пептидного препарата пинеальной железы пинеалона (Glu-Asp-Arg), способного стимулировать синтез и (или) синхронизировать секрецию эндогенного мелатонина, не оказывая при этом побочного действия, характерного для экзогенно введенного гормона пинеальной железы. Установлено, что введение препарата способно устранять вызываемое метиониновой нагрузкой нарушение нормальной суточной динамики содержания нейромедиатора в исследованной области гипоталамуса. Полученные результаты свидетельствуют о протекторном действии пинеалона, способном сгладить неблагоприятное воздействие гипергомоцистеинемии на репродуктивную функцию самки крысы.

*Корневский Андрей Валентинович
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3
E-mail: a.korenevsky@yandex.ru*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
ERK1/2-КИНАЗ И БЕЛКОВ SNARE-КОМПЛЕКСА В НЕЙРОНАХ
ВИСОЧНОЙ КОРЫ И ГИППОКАМПА У КРЫС, ПОДВЕРЖЕННЫХ
АУДИОГЕННЫМ ЭПИЛЕПТИФОРМНЫМ СУДОРОЖНЫМ ПРИПАДКАМ

А. А. Коротков, О. А. Кириллова

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

Формирование эпилептиформной готовности у инбредной линии крыс Крушинского–Молодкиной (КМ) может быть связано с нарушением экспрессии белков экзоцитоза, в частности синапсина-1 и белков SNARE-комплекса – SNAP25 и VAMP2 в пресинаптических окончаниях нейронов гиппокампа и височной коры. Сравнение содержания этих белков у крыс линии КМ и линии Вистар, проведенное с помощью Вестерн блот анализа и иммуногистохимического метода показало, что у крыс линии КМ наблюдалось снижение содержания SNAP25 и увеличение количества VAMP2, а также повышение активности синапсина-1, фосфорилированного ERK1/2 киназами по сайтам Ser62 и 67. При этом активность ERK1/2 киназ у крыс линии КМ была выше, чем у крыс линии Вистар. На стадии клонико-тонических судорог содержание белков SNARE-комплекса во всех слоях гиппокампа и во втором слое височной коры возрастало, что коррелировало с активацией ERK1/2-киназ в этих отделах мозга. Однонаправленный характер изменений в содержании ERK1/2 и исследуемых белков экзоцитоза, а также выявление ERK1/2-киназ в волокнах нейронов, содержащих синапсин-1, SNAP25 и VAMP2, показанное с помощью конфокальной микроскопии, свидетельствует о зависимости активности синапсина и экспрессии белков экзоцитоза от активности ERK1/2-киназ.

Участие ERK1/2-киназ в регуляции экспрессии и активности белков экзоцитоза подтверждено в экспериментах с использованием селективного ингибитора ERK1/2-киназ SI327. Введение этого блокатора привело к отмене судорог у 70% животных. При этом на фоне резкого снижения активности киназ в височной коре и гиппокампе наблюдалось повышение содержания одного из белков экзоцитоза – SNAP25. Экспрессия VAMP2 и активность синапсина-1 понижались при инактивации ERK1/2, что, возможно, связано со снижением выведения нейротрансмиттеров в исследуемых областях.

Таким образом, показано участия ERK1/2-киназ в регуляции выведения нейротрансмиттеров за счет воздействия на белки экзоцитоза. Высказано предположение, что нарушение этого взаимодействия может лежать в основе развития эпилептиформной готовности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 11-04-00648).

*Коротков Анатолий Александрович
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: tolkoral@mail.ru*

ВЛИЯНИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ
НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ИНСУЛИН-ДЕГРАДИРУЮЩЕГО ФЕРМЕНТА
В МОЗГЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОРГАНАХ КРЫС

Е. Г. Кочкина¹, С. А. Плеснева¹, И. А. Журавин¹,
Э. Дж. Тернер², Н. Н. Наливаева^{1,2}

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

²*Школа молекулярной и клеточной биологии Университета г. Лидс
Лидс, Великобритания*

В связи с увеличением средней продолжительности жизни существенно возрастает частота проявления спорадической формы болезни Альцгеймера (БА), развитию которой способствует нарушение снабжения мозга кислородом при ишемии и гипоксии, а также наличие таких хронических заболеваний, как диабет. Несмотря на интенсивные исследования, общие молекулярные механизмы, лежащие в основе их повреждающего действия на функционирование нервной ткани, пока остаются невыясненными. Одним из факторов, приводящим к гибели нервных клеток и когнитивным нарушениям, сопровождающим БА, является накопление в нервной ткани токсических агрегатов β -амилоидного пептида ($A\beta$). В нормально функционирующем мозге катаболизм $A\beta$ регулируется рядом протеолитических ферментов, к числу которых относится инсулин-деградирующий фермент (ИДФ), и снижение его экспрессии и активности может приводить к повышению содержания $A\beta$ и развитию БА. Целью данного исследования было сравнительное изучение уровня экспрессии ИДФ в структурах мозга и периферических органах крыс в ходе старения, при острой гипоксии, а также при развитии экспериментального диабета. Проведенные исследования показали, что с возрастом имеет место существенное снижение экспрессии мРНК и белка ИДФ в печени и ткани мозга крыс, в частности, в коре и стриатуме. Воздействие острой нормобарической гипоксии (7% O_2 , 3 часа) приводило к снижению уровня ИДФ в коре и гиппокампе крыс на 20%, а в стриатуме – на 80%. У диабетических крыс также обнаружено снижение экспрессии ИДФ на уровне белка на 20–30% в коре и гиппокампе. В периферических органах диабетических крыс наиболее существенные изменения наблюдались в сердце, где уровень ИДФ снижался на 75%, в то время как в печени экспрессия ИДФ повышалась на 45%, а в почках практически не изменялась. Полученные данные свидетельствуют, что как гипоксия, так и развитие диабета сопровождаются снижением уровня ИДФ в тех структурах мозга (кора и гиппокамп), где накопление $A\beta$ при БА имеет наиболее выраженный характер, что и может быть причиной развития когнитивного дефицита и БА.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00388) и Программы РАН «Фундаментальные науки – медицине».

*Е. Г. Кочкина
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: kochkakat@yandex.ru*

НЕЙРОПЕПТИДНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИНСАЙТНЫХ ПРОЦЕССОВ ТВОРЧЕСКОЙ ЛИЧНОСТИ

А. Б. Кривенко

*Научный центр неврологии РАМН
Москва*

Исследования мозговой организации творческих процессов с помощью ЭЭГ-, МРТ-, ПЭТ-показателей свидетельствуют, что при их протекании происходит активация префронтальной коры обоих полушарий (Николаенко, 2001; Бехтерева, 2007). Степень креативности у особо одаренных людей находится в прямой зависимости от размеров неокортиальных полей (Савельев, 2012). Особая роль нейротрансмиттера мелатонина в когнитивных процессах была установлена также недавно (Арушанян, 2006). Мы показали, что, если гиперсекреция мелатонина у обычных людей приводит к маниакальному состоянию, то у творческой личности она проявляется в инсайте (Кривенко, 2008).

По химической структуре мелатонин является производным биогенного амина серотонина и активно вырабатывается ночью во сне, когда большинство нейронов бездействует. В это время нервные окончания выделяют норадреналин, активирующий в пинеалоцитах синтез ферментов, образующих мелатонин. Этим объясняется тот факт, что инсайтные процессы, или «озарения», у гениальных людей происходят обычно ночью во сне (Мигдал, 1983).

Данные экспериментов свидетельствуют, что мобилизация в ночное время мелатониновых рецепторов, влияющих на фактор роста нейронов, стимулирует когнитивные процессы творческой личности и способствует возникновению инсайта.

Литература:

- Арушанян Э.Б. Уникальный мелатонин. Ставрополь, 2006.
Бехтерева Н.П. Магия мозга и лабиринты жизни. М.—СПб., 2007.
Кривенко А.Б. Ночные сновидения проскопического характера в творчестве Шекспира, Блека. Пушкина, Бирса // Труды РАШ. Вып. 5. М., 2008.
Мигдал А.Б. Поиски истины. М., 1983.
Николаенко Н.Н. Творчество и мозг. СПб., 2001.
Савельев С.В. Изменчивость и гениальность. М., 2012.

*Кривенко Алла Борисовна
Научный центр неврологии РАМН
105064 Москва, пер. Обуха, 5
E-mail: akalevi16@gmail*

ВЛИЯНИЕ ФЛУОКСЕТИНА НА АКТИВНОСТЬ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ *E* В ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС

А. Д. Кручинина, С. С. Гамзин, О. М. Григорьева

Пензенский государственный университет

По данным Всемирной организации здравоохранения, депрессия является одним из наиболее распространенных психических расстройств. Точные механизмы возникновения заболевания не известны. Симптомы депрессии указывают на участие лимбико-гипоталамо-гипофизарных структур мозга в формировании патологического состояния. Согласно моноаминовой гипотезе, в основе психического расстройства лежит дефицит биогенных аминов, таких как серотонин, норадреналин, дофамин. Этим обусловлено широкое применение селективных ингибиторов обратного захвата моноаминов в фармакотерапии данного заболевания. Большую роль в формировании депрессивного расстройства отводят пептидергической системе мозга. Уровень регуляторных пептидов в организме определяется эффективностью их процессинга с участием протеолитических ферментов их обмена. Целью данного исследования является изучение влияния селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (флуоксетина) на активность фермента обмена регуляторных пептидов (карбоксипептидазы *E*) в отделах мозга крыс. В эксперименте участвовали трехмесячные самцы белых беспородных крыс массой 200–250 г. Флуоксетин инъектировали животным перитонеально в течение 14 дней. Через 24 часа после последней инъекции препарата в отделах мозга определяли активность карбоксипептидазы *E* с помощью флуориметрически модифицированного метода Fricker и Snyder. Результаты исследования обрабатывали методами статистического анализа: $3S$ -критерий и t -критерий Стьюдента. По результатам исследования было установлено достоверное снижение активности КПЕ в 1,45 раз в гипофизе ($p < 0,01$), в 1,13 раза в гипоталамусе ($p < 0,01$), повышение активности в 1,23 раза в гиппокампе ($p < 0,01$) по сравнению с контрольными животными, получавшими инъекции физиологического раствора. Не обнаружены достоверные отличия в активности КПЕ в гипофизе и гиппокампе по сравнению с интактными животными, не получавшими инъекции. Полученные данные свидетельствуют о влиянии селективных ингибиторов обратного захвата серотонина на функционирование пептидергической системы.

*Кручинина Анастасия Дмитриевна
Пензенский государственный университет
440026 Пенза, ул. Красная, 40
E-mail: a.d.kruchinina@mail.ru*

НОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЦЕПТОР-ОПОСРЕДОВАННОЙ И ТРАНСДУКТОР-ОПОСРЕДОВАННОЙ МОДУЛЯЦИИ МЕДЛЕННЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ

Б. В. Крылов

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

Ощущение боли связано с повышением частоты генерации нервных импульсов ноцицепторами. Молекулярная структура, ответственная за кодирование ноцицептивных сигналов – это медленные натриевые каналы, $Na_v1.8$ (Kostyuk et al., 1981; Gold et al., 1996; Borovikova et al., 1997). Снижение возбудимости мембраны ноцицептивного нейрона может осуществляться путем рецептор- или трансдуктор-опосредованной модуляции каналов $Na_v1.8$, точнее, путем снижения их потенциальности за счет уменьшения величины эффективного заряда их активационного воротного устройства (Крылов и др., 1999). Исследование рецептор-опосредованной модуляции каналов $Na_v1.8$ позволило нам разработать новый отечественный неопиоидный анальгетик «Аноцептин», успешно прошедший первую фазу клинических исследований (Лопатина, Поляков, 2011).

Участие медленных натриевых каналов в «рецепции» низкоинтенсивного инфракрасного (ИК) излучения было обнаружено нами при воздействии ИК излучения широкой области спектра (1–56 мкм) (Плахова и др., 2003) и при воздействии низкоинтенсивного излучения CO_2 -лазера (Yachnev et al., 2012). В этих двух случаях оно приводило к трансдуктор-опосредованному снижению потенциальности активационного воротного устройства медленных натриевых каналов.

Часть исследования была проведена с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM-710 (фирма Carl Zeiss, Германия) в Центре коллективного пользования «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-00440).

*Крылов Борис Владимирович
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: krylov@infran.ru*

hRpn10 КАК СЕНСОР ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА

А. А. Кудряева, Е. С. Кузина, А. А. Белогуров, А. Г. Габиров

*Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Москва*

Основной белок миелина (МВР) – один из главных белковых компонентов миелиновой оболочки аксонов в центральной и периферической нервной системе. Данный белок также является одним из основных аутоантигенов при рассеянном склерозе, системном аутоиммунном демиелинизирующем заболевании центральной нервной системы человека, характеризующемся множественными повреждениями белого вещества. В процессе метаболизма внутриклеточный протеолиз МВР может происходить под действием различных протеаз, а также протеасомы. Абсолютное большинство белков разрушаются 26S протеасомой по убиквитин-зависимому пути. Тем не менее показано, что принципиально возможна и убиквитин-независимая деградация белков. В Лаборатории биокатализа ИБХ РАН ранее было установлено, что 26S протеасома способна гидролизовать неубиквитинилированный МВР. В данной работе предложен молекулярный механизм гидролиза МВР 26S протеасомой по убиквитин-независимому пути. На первом этапе была продемонстрирована способность МВР непосредственно связываться с белком hRpn10 – основным убиквитиновым рецептором 19S регуляторной субчастицы 26S протеасомы. При этом показано, что данное взаимодействие обусловлено аномально основным зарядом МВР ($pI \approx 11.5$). Уменьшение заряда МВР при его ацилировании и дезаминировании замедляет гидролиз МВР 26S протеасомой вследствие потери способности hRpn10 узнавать МВР. Мы предполагаем, что уменьшение положительного заряда МВР, например, путем природного дезаминирования, может действовать как система самозащиты МВР от неконтролируемого гидролиза 26S протеасомой. С другой стороны, изучая зависимость скорости гидролиза МВР от его концентрации, было обнаружено, что скорость деградации белка значительно замедляется при концентрации менее 200 нМ. Известно, что МВР, не связанный с мембраной, способен формировать структуры, подобные амилоидным фибриллам, которые потенциально могут быть токсичны для клетки. Таким образом, гидролизу белок убиквитин-независимо 26S протеасома возможно защищает клетку от избытка МВР. Данный механизм может играть важную роль в биогенезе миелина в норме и патологии.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ 14-14-00585 «Молекулярный механизм убиквитин-независимого протеолиза белков протеасомой и его роль в норме и патологии».

*Кудряева Анна Анатольевна
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
E-mail: anna.kudriaeva@gmail.com*

УБИКВИТИН-НЕЗАВИСИМЫЙ ГИДРОЛИЗ ОСНОВНОГО БЕЛКА
МИЕЛИНА ПРОТЕАСОМОЙ И ЕГО РОЛЬ В РАЗВИТИИ
АУТОИММУННЫХ ПАТОЛОГИЙ ЦНС

Е. С. Кузина^{1,2}, А. А. Кудряева², Е. А. Сурина², А. С. Кононихин^{3,4},
А. В. Бачева¹, А. А. Белогуров², А. Г. Габиров^{1,2}

¹Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

²Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

³Институт энергетических проблем химической физики РАН

⁴Институт биохимической физики РАН

Москва

Изучение протеолитической дегградации аутоантигенов имеет важное значение для современной биохимии и иммунологии. В результате проведенной работы нами было показано, что основной белок миеллина (МВР), главный аутоантиген при рассеянном склерозе, гидролизуется протеасомой по убиквитин-независимому пути *in vitro* и в клетках млекопитающих. При развитии экспериментального аутоиммунного энцефаломиелимита (ЕАЕ) – животной модели рассеянного склероза – в головном мозге иммунизированных животных конститутивная протеасома в значительной степени замещается иммунопротеасомой, при этом иммуносубъединица $\beta 1i$ локализуется преимущественно в олигодендроцитах. Для дальнейшей оценки физиологической значимости описанных наблюдений мы провели количественное сравнение продуктов дегградации МВР протеасомой из головного мозга контрольных мышей BALB/c и протеасомой из головного мозга мышей линии SJL, развивающих ЕАЕ, с применением тандемной хромато-масс-спектрометрии. Показано, что повышенное содержание иммунопротеасомы в головном мозге мышей с ЕАЕ приводит к образованию повышенного количества ряда патогенных пептидов МВР, включая пептид ENPVVHFF, являющийся частью энцефалитогенного региона МВР. Активированные CD8⁺ Т-клетки, специфичные к данному пептиду, специфически лизировали олигодендроциты, обработанные интерфероном-гамма. Специфический ингибитор иммуносубъединицы $\beta 1i$ селективно воздействовал на иммунопротеасому *in vitro*, а также эффективно подавлял развитие ЕАЕ *in vivo* у экспериментальных животных. Полученные факты указывают на возможную связь между протеолитической активностью иммунопротеасомы и развитием рассеянного склероза, а также на перспективность специфических ингибиторов иммунопротеасомы как потенциальных лекарственных средств.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ 14-14-00585 «Молекулярный механизм убиквитин-независимого протеолиза белков протеасомой и его роль в норме и патологии».

Кузина Екатерина Сергеевна
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
E-mail: kat.kuzina@gmail.com

СОДЕРЖАНИЕ МОНООКСИДА АЗОТА И ДИНАМИКА ВЫЗВАННЫХ ОТВЕТОВ В ГИППОКАМПЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ МОЗГА

В. А. Кульчицкий¹, Х. Л. Гайнутдинов^{2,3}, В. В. Андрианов^{2,3}, Г. Г. Яфарова^{2,3},
В. С. Июдин³, А. А. Денисов¹, С. Г. Пашкевич¹, А. Нама-Murad⁴,
М. О. Хотянович¹

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Казанский федеральный университет

³Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского Казанского НЦ РАН

⁴Orsa clinic Dalarna, Sweden

Амбивалентность поведения монооксида азота (*NO*) при снижении напряжения кислорода в ткани мозга явилась поводом для проведения совместного исследования. В срезах гиппокампа с помощью электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) определяли содержание *NO* и электрофизиологическими методами регистрировали возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП) и популяционные спайки (ПС) в СА1 области гиппокампа. Болюсное введение *L-NNA* (0,5 мг в 10 мл искусственного ликвора) в перфузионную камеру сопровождалось увеличением вызванных ответов, что отражало формирование после блокады наработки *NO* условий для фасилитации ВПСП и ПС. Последующее (через 10 мин после введения *L-NNA*) моделирование гипоксических условий (насыщение искусственного ликвора атмосферным воздухом вместо карбогена (95,0% O₂ и 5% CO₂)) сопровождается деструкцией внутриклеточных органелл и синаптических образований нервных клеток и ослаблением амплитуд ВПСП и ПС. Аналогичный паттерн вызванных ответов в СА1 области гиппокампа зафиксирован при предварительном локальном введении 50 мкл крови в ткань гиппокампа. Подобное развитие событий свидетельствует о нарушении условий межнейронных коммуникаций и срыве *input-output*-процессов на уровне нервных клеток и их популяций при снижении напряжения кислорода в ткани гиппокампа. Одновременно методом ЭПР зафиксировано падение уровня *NO*. Предварительная перфузия *L-NAME* или *L-NNA in vitro* сопровождалась нивелированием преходящего возрастания амплитуды ПС. Таким образом, не только в норме, но и при резком снижении напряжения кислорода в ткани мозга (модели ишемического или геморрагического инсульта) *NO* контролирует *input-output*-процессы в популяциях клеток, расположенных в СА1 области гиппокампа. Полученные данные о восстановлении баланса *input-output*-взаимоотношений в популяции клеток гиппокампа после ингибирования *NO* синтеза свидетельствуют о целесообразности ингибирования избыточной продукции *NO* в ситуациях, сопровождающихся ослаблением доставки кислорода к различным участкам мозга.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 12-04-97033_БЕЛ) и БРФФИ (грант № Б12Р-047).

Кульчицкий Владимир Адамович
Институт физиологии НАН Беларуси
Беларусь, 220072 Минск, ул. Академическая, 28
E-mail: vladi@fizio.bas-net.by

СИНТЕЗ ДОФАМИНА НЕДОФАМИНЕРГИЧЕСКИМИ НЕЙРОНАМИ
ПРИ ДЕГЕНЕРАЦИИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ
В АРКУАТНОМ ЯДРЕ У КРЫС

А. Ю. Курина, Т. С. Пронина, М. В. Угрюмов

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Москва*

Дофамин (ДА), синтезирующийся в аркуатном ядре (АЯ) и выделяющийся в срединном возвышении, играет ключевую роль в регуляции репродуктивной функции. Ранее в нашей лаборатории было показано, что ДА в АЯ синтезируется не только ДА-ергическими нейронами, содержащими оба фермента синтеза ДА – тирозингидроксилазу (ТГ) и декарбоксилазу ароматических аминокислот (ДАА), но и совместно моноферментными неДА-ергическими нейронами, экспрессирующими по одному из комплементарных ферментов синтеза ДА. На разработанной нами фармакологической модели 6-гидроксидофамин (6-ГДА)-индуцированной дегенерации ДА-ергических и норадренергических нейронов было показано, что уровень ДА на 14-й день снижается, а на 45-й день восстанавливается. Нами была высказана гипотеза о том, что эта компенсация происходит за счет кооперативного синтеза ДА неДА-ергическими нейронами.

Целью данной работы была проверка нашей гипотезы о кооперативном синтезе ДА в АЯ при нейродегенерации. Для этого были поставлены следующие задачи: в контроле и после введения 6-ГДА (опыт) определить уровень синтеза ДА и L-ДОФА неДА-ергическими нейронами на 14-й и 45-й день после введения токсина. Для этого использовали L-лейцин (L-Leu) – крупную нейтральную аминокислоту, которая блокирует перенос L-ДОФА – промежуточного продукта синтеза ДА из нейронов, содержащих ТГ в нейроны, содержащие ДАА, тем самым нарушая кооперативный синтез ДА неДА-ергическими нейронами. На 14-й и 45-й день после введения токсина слайсы АЯ инкубировали в искусственной среде без добавления или с добавлением L-Leu. В ткани и в инкубационной среде определяли уровень ДА и его метаболитов.

На 14-й день после введения 6-ГДА при максимальном развитии нейродегенеративных процессов происходит 55% снижение содержания ДА в ткани и в среде, обусловленное действием токсина. При этом добавление L-Leu привело к 30-40% снижению содержания ДА и в опыте, и в контроле. Уровень L-ДОФА не изменился. На 45-й день после введения токсина происходит восстановление содержания ДА в опыте до уровня контроля. Добавление в среду L-Leu привело к 27% снижению содержания ДА в контроле. В опыте наблюдалось 50% снижение ДА, сопровождающееся увеличением содержания L-ДОФА.

Таким образом, наблюдаемая на 45-й день после введения 6-ГДА компенсация уровня ДА происходит за счет увеличения кооперативного синтеза ДА неДА-ергическими нейронами.

*Курина Анна Юрьевна
Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26
E-mail: kurina.anya@gmail.com*

ВЛИЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНЫХ МИКРОИНЪЕКЦИЙ ШАПЕРОНА Grp78 НА ПОКАЗАТЕЛИ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ И СТРУКТУРУ СНА У КРЫС

К. В. Лапшина, М. А. Гузеев, В. В. Симонова

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

Известно, что лишение сна и покоя вызывает у представителей насекомых, птиц и млекопитающих усиление экспрессии генов семейств белков теплового шока (Heat Shock proteins, HSP), и в частности – белков теплового шока с массой 70 кДа – Hsp70 и глюкозо-регулируемого белка Grp78 [Shaw et al., 2002; Terao et al., 2003, Naidoo et al., 2005; Jones et al., 2008]. Предполагается, что увеличение экспрессии генов HSP во время депривации сна является нейропротективным ответом на продолжительное бодрствование, направленным на восстановление гомеостаза сна. Под руководством Ю.Ф. Пастухова впервые установлено, что увеличение содержания в мозге Hsp70 (путем микроинъекций в ликвор) вызывает увеличение медленного сна, снижение мышечной активности и температуры мозга у теплокровных животных [Пастухов и др., 2010]. Выяснено, что сомногенный эффект экзогенного Hsp70 может быть связан с его способностью проникать в нейроны и синапсы структур мозга, ответственных за регуляцию сна и сомато-висцеральных функций; молекулярными мишенями действия Hsp70 являются фермент синтеза ГАМК и синаптофизин [Ekimova et al., 2010]. Эти данные позволили предположить, что Grp78 также может быть вовлечен в центральные механизмы регуляции сна и сомато-висцеральных функций. Цель исследования – оценить влияние микроинъекций белка Grp78 на температуру тела, сократительную активность мышц, а также на временные и спектральные характеристики состояний сна и бодрствования у крыс.

Опыты выполнены на самцах крыс линии Вистар. Регистрацию полисомнограммы и температуры тела проводили в условиях свободного поведения в течение 24 часов с помощью установок SASR-8800 и DSI (США). Рекомбинантный Grp78 (Abcam, Великобритания) вводили в начале неактивной (светлой) фазы суток в 3-й желудочек мозга. Установлено, что Grp78 не вызывал достоверных изменений температуры тела у крыс, однако способствовал снижению уровня сократительной активности мышц в течение первых 5 часов после микроинъекции (что свидетельствовало о наступлении более глубокого мышечного покоя). Анализ полисомнограммы показал, что в период со 2-го по 6-й час происходило значительное уменьшение общего времени быстрого сна (в 3 раза), а с 3-го по 10-й час во время медленного сна выявлено увеличение спектральной плотности в диапазоне 0.5–4 Гц. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что Grp78 вовлечен в молекулярные механизмы регуляции быстрого и медленного сна и сопряженной со сном сократительной активности мышц.

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-31692).

*Лапшина Ксения Валерьевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: ksenia.lapshina@gmail.com*

РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ДОКЛИНИЧЕСКОЙ СТАДИИ БОЛЕЗНИ
ПАРКИНСОНА У КРЫС НА ОСНОВЕ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО СПОСОБА
ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРА ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ

К. В. Лапшина, М. В. Чернышов, Ю. Ф. Пастухов, И. В. Екимова

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

Одним из важнейших направлений в изучении болезни Паркинсона (БП) является поиск ранних маркеров этого заболевания и разработка методов доклинической диагностики. Огромное значение в этой области имеют модели БП на животных, большинство из которых, однако, имитируют лишь отдельные признаки заболевания. Развитие БП связано со снижением активности убиквитин-протеасомной системы и накоплением токсичных форм белков, вызывающих гибель дофамин (ДА)-ергических нейронов компактной части черной субстанции (кчЧС). Локальные микроинъекции специфического ингибитора протеасом лактацистина (ЛЦ) в кчЧС вызывали угнетение активности протеасом в этой структуре. Применение разных доз ЛЦ позволило впервые получить модели доклинической (с потерей менее 30% нейронов кчЧС) и клинической (с потерей более 60% нейронов кчЧС) стадий БП с основными признаками болезни [Пастухов и др., 2010; Пастухов, 2013]. Цель исследования – выяснить возможность создания модели доклинической стадии БП на основе интраназального способа доставки в мозг ЛЦ.

Опыты выполнены на самцах крыс линии Вистар. ЛЦ вводили дважды с недельным интервалом. Для анализа тревожности, эмоциональной, исследовательской и двигательной активностей животных тестировали в приподнятом крестообразном лабиринте и открытом поле. Для изучения моторного поведения анализировали изменения походки и координации движений, применяли тесты с записыванием на решетке (оценка утомляемости мышц) и семенами подсолнечника (оценка тонкой моторики языка и передних конечностей). Иммуногистохимическое исследование проводили на 14-й день после двукратных введений ЛЦ.

Морфологический анализ показал, что ЛЦ вызывает гибель менее 20% ДА-ергических нейронов кчЧС и повышение уровня тирозингидроксилазы. Эти изменения не сопровождались нарушением моторных функций у крыс. Выявленные показатели характерны для модели доклинической стадии БП [Пастухов и др., 2010]. Установлено также, что введение ЛЦ по сравнению с контролем повышало уровень тревожности, что может быть обусловлено влиянием ЛЦ на другие структуры мозга, участвующие в формировании тревожно-подобного поведения. На основании полученных данных можно предположить, что интраназальный путь введения ЛЦ является весьма перспективным для разработки новых моделей БП; необходимы дальнейшие исследования в данном направлении.

*Лапшина Ксения Валерьевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: ksenia.lapshina@gmail.com*

УЧАСТИЕ ОРЕКСИНА *A* В МЕХАНИЗМАХ ПОДКРЕПЛЕНИЯ В ЯДРЕ ЛОЖА КОНЕЧНОЙ ПОЛОСКИ

А. А. Лебедев, Е. Г. Шумилов, А. А. Смирнов, А. М. Потапкин,
Р. О. Роик, И. Ю. Тиссен, П. Д. Шабанов

*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН
Санкт-Петербург*

В последние годы было показано, что нейропептиды гипоталамуса орексина участвуют в механизмах подкрепления и пищевого поведения.

Цель: В работе исследовали роль рецепторов орексина *A1* (OX1R) ядра ложа конечной полоски (BNST) для реализации механизмов подкрепления и зависимости от психостимуляторов (на примере фенамина) у крыс.

Методы: В латеральное ядро гипоталамуса крысам самцам Вистар вживляли электроды, канюли вживляли в боковой желудочек или в BNST. Впоследствии крыс обучали нажимать на педаль в камере Скиннера для получения электрического раздражения мозга в фиксированном режиме. SB-408124 вводили в объеме 1 мкг/мкл в течение 1 мин в BNST или 5 мкг/5 мкл в течение 1 мин в левый желудочек мозга.

Результаты: Фенамин (1 мг/кг внутривенно) на 37% повышал частоту и на 8% снижал порог реакции самостимуляции латерального гипоталамуса. Антагонист рецепторов орексина *A* (OX1R) SB-408124 не изменял параметры реакции самостимуляции как при введении в желудочек мозга, так и при введении в BNST. В то же время SB-408124 при введении в BNST блокировал вызванное фенамином повышение частоты с 37 до 6% и снижение порога самостимуляции латерального гипоталамуса с 8 до 2%. SB-408124 при введении в желудочек мозга также вдвое снижал показатели реакции самостимуляции, активируемой фенамином.

Заключение: Результаты настоящих исследований обсуждаются с точки зрения нейрохимических механизмов BNST, структуры расширенной миндалины (*extended amygdala*), вовлечения экстрагипоталамической системы кортиколиберина. В этой связи антагонисты орексина *A*, по-видимому, могут рассматриваться как перспективные вещества биологической профилактики злоупотребления психостимуляторами.

*А. А. Лебедев
НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН
197376 Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12
E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru*

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАБОТЫ
ДВУХ МИТОХОНДРИО-ЗАВИСИМЫХ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ В КГМ
В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ: СУКЦИНАТ-ЗАВИСИМОГО РЕЦЕПТОРА
GPR-91 И ГИПОКСИЧЕСКОГО ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА HIF-1 α

Л. Д. Лукьянова, Ю. И. Кирова, Э. Л. Германова

*Научно-исследовательский институт
общей патологии и патофизиологии РАМН*

Москва

Репрограммирование работы дыхательной цепи в условиях гипоксии (компенсаторная активация митохондриального комплекса II – МxК II), сопровождающееся увеличением образования субстрата цикла Кребса сукцината (маркера гипоксии), способствует активации двух сукцинат-зависимых систем: а) сукцинат-зависимого рецептора GPR-91 и б) транскрипционного гипоксического фактора HIF-1, ответственного за экспрессию генов адаптации. Доказывается, что индукция сукцинат-зависимого рецептора GPR-91 – ткане-специфический кислород-зависимый процесс, наиболее выраженный в ткани-мишени – КГМ низко-толерантных к гипоксии животных. Срочная индукция GPR-91 в КГМ в ответ на однократное гипоксическое воздействие сопряжена с активацией цикла Робертса и предположительно участвует в процессах, направленных на снижение глутаматной эксайтотоксичности. При многократном применении гипоксических воздействий в КГМ дополнительно формируется фаза отсроченной индукции GPR-91. Обе фазы коррелируют с динамикой формирования срочной и отсроченной резистентности организма. Динамика этого процесса находится в противофазе с экспрессией α -кетоглутурат-зависимого рецептора GPR-99, что отражает компенсаторную активацию на ранней стадии гипоксии МxК II и формирование новых изоформ ферментов МxК I, необходимых для адаптивного восстановления активности этого участка дыхательной цепи в условиях сниженного содержания O₂ в среде.

Срочная и отсроченная индукция гипоксической экспрессии HIF-1 α также ткане-специфична и генетически детерминирована, так как реализуется преимущественно в КГМ низко-толерантных к гипоксии крыс при слабых и умеренных гипоксических воздействиях и подавляется в условиях тяжелой гипоксии. У толерантных к гипоксии животных гипоксическая экспрессия HIF-1 α в КГМ слабо выражена или вообще отсутствует, что предполагает участие других сигнальных систем в формировании адаптивных процессов у этого фенотипа животных.

Рассматривается возможность взаимовлияния этих двух сигнальных путей при гипоксии и их взаимодействие с другими рецепторными системами.

*Лукьянова Людмила Дмитриевна
НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН
125315 Москва, Балтийская ул. 8
E-mail: ldlukyanova@gmail.com*

МОДУЛЯЦИЯ КАЛЬЦИЙЗАВИСИМОГО ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО
ПРОТЕОЛИЗА КАК СОСТАВЛЯЮЩАЯ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО
ДЕЙСТВИЯ ЭСТРОГЕНОВ

Л. А. Лысенко, Н. П. Канцерова, Н. Л. Рендаков, Н. Н. Немова

*Институт биологии Карельского НЦ РАН
Петрозаводск*

Нейродегенерация (спровоцированная патологическим процессом или старением) сопровождается нарушениями белкового обмена в нервной ткани и дисбалансом в работе многих внутриклеточных протеолитических систем. Не подвергается сомнению тот факт, что общим биохимическим признаком патологически-измененной нервной ткани является дисбаланс внутриклеточного кальция, который развивается по многим механизмам. Избыток кальция вызывает персистентную активацию кальцийзависимых протеиназ, приводящую к избыточному гидролизу их субстратов – структурных и регуляторных нейрональных белков и, в конечном счете, к усилению путей клеточной гибели. На крысах, подвергнутых экспериментальной патологии путем интрацеребрального введения нейротоксичных агентов (40-членного амилоидного бета-пептида или медиатора глутамата), был протестирован нейропротективный потенциал эстрогена. На фоне применения 17 β -эстрадиола у животных были отмечены позитивные поведенческие (восстановление когнитивных функций), гистологические (снижение количества апоптотических клеток) и биохимические изменения. Последние заключались в снижении уровня мРНК кальпаинов, восстановлении пула их ингибитора – кальпастина и общем снижении кальцийзависимого протеолиза. Наряду с модулирующим действием на активность кальпаинов, эстрогены обладают рядом потенциально полезных свойств – усиливают неамилоидогенный процессинг амилоидного белка-предшественника, тормозят образование патологических бета-пептидов, снижают синтез проагрегантных факторов и повышают уровень ферментов, деградирующих белковые агрегаты. Учитывая ограниченность предлагаемых на современном этапе средств терапии нейродегенеративных заболеваний, половые стероиды могут являться доступной альтернативой более специфичным подходам.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН в рамках проекта РФФИ № 12-04-01597-а и при поддержке программы «Ведущие научные школы России», проект НШ-1410.2014.4.

*Лысенко Людмила Александровна
Институт биологии Карельского НЦ РАН
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11
E-mail: l-lysenko@yandex.ru*

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
УЧАСТИЯ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ
ЭПИЛЕПСИИ И ДРУГИХ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЦНС

Л. Г. Магазаник^{1,2}, А. В. Зайцев¹, К. Х. Ким¹, Н. Я. Лукомская¹

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

²*Санкт-Петербургский государственный университет, медицинский факультет*

Вовлеченность ионотропных глутаматных рецепторов (иГлуР) в патогенезе многих заболеваний ЦНС является предметом обширных мультидисциплинарных исследований, эти же рецепторы являются мишенью для избирательного фармакологического воздействия. При анализе патогенеза неврологических нарушений, как правило, выделяют две основные группы изменений в молекулярных механизмах. К первой относятся непосредственные следствия гиперактивации иГлуР, вызванные повышенной секрецией из пресинаптических терминалей и задержкой присутствия свободного глутамата в синаптическом пространстве. Ко второй – последствия изменения как уровня экспрессии иГлуР в определенных отделах мозга, так и их субъединичного состава.

При исследовании участия глутаматергической передачи в патогенезе судорожного синдрома, вызванного разнообразными экспериментальными воздействиями (хемоконвульсантами, электрошоком, травмой и др.), выявляется последовательное вовлечение обеих групп механизмов. Например, клонико-тонические судороги у мышей и крыс, вызываемые однократным введением пентилентетразола, ареколина, пилокарпина, максимальным электрошоком или звуком, у крыс линии Крушинского–Молодкиной могут быть существенно ослаблены избирательными блокаторами NMDA-рецепторов, тогда как избирательные блокаторы Са-проницаемых AMPA-рецепторов оказываются неэффективными или при некоторых формах экспериментов даже усугубляют проявление судорог. Таким образом, однократное конвульсантное действие избыточной секреции глутамата проявляется через NMDA-рецепторы, но не Са-проницаемые AMPA-рецепторы. Вовлеченность Са-проницаемых AMPA-рецепторов в инициацию и распространение судорожного процесса выявляется при длительном конвульсогенном воздействии в ходе пентилентетразолового киндлинга и рецидивирующего синдрома, вызванного пилокарпином, что обусловлено встраиванием этих рецепторов в постсинаптические мембраны пирамидных клеток.

Работа поддержана грантами РФФИ 12-04-01080, 13-04-00453, 14-04-00413, 13-04-00224, программами Президиума РАН №5 и 7.

*Магазаник Лев Гиршевич
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: levmagazanik100@gmail.com*

СРАВНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ДВУХ БЛОКАТОРОВ
КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫХ AMPA-РЕЦЕПТОРОВ
НА ВЫЗВАННУЮ И СПОНТАННУЮ СИНАПТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
ИНТЕРНЕЙРОНОВ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫСЫ

С. Л. Малкин, К. Х. Ким, Л. Г. Магазаник, А. В. Зайцев

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

Кальций-проницаемые AMPA (Ca-AMPA) рецепторы включены в работу нормальной синаптической передачи, однако их экспрессия может возрастать при ряде заболеваний ЦНС, что ведет к избыточному входу Ca^{2+} и последующему нарушению функционирования и даже гибели нейронов. Это делает их перспективной фармакологической мишенью. Фармакологические препараты, антагонисты Ca-AMPA-рецепторов, должны избирательно действовать на патологическую синаптическую активность и не влиять на нормальную. Поэтому важно знать особенности действия таких блокаторов в разных условиях синаптической передачи. В данной работе мы сравнили действие двух блокаторов – ИЭМ-1460 и ИЭМ-1755 в разных концентрациях на вызванную (вВПСТ) и спонтанную (миниатюрные, мВПСТ) синаптическую активность интернейронов коры.

Эксперименты проводили на переживающих срезах коры мозга крысы. Синаптические токи регистрировали при -80 мВ. ИЭМ-1460 и ИЭМ-1755 использовались в концентрациях, равных 5 IC₅₀ и 30 IC₅₀. Эффект ИЭМ-1755 в высокой концентрации (300 мкМ/л) на вВПСТ интернейронов был выражен сильнее, чем у ИЭМ-1460 (100 мкМ/л, блок $70 \pm 4\%$ против $38 \pm 5\%$, $p < 0.05$). В низких концентрациях различий в эффективности блока амплитуды вВПСТ между ИЭМ-1460 и ИЭМ-1755 выявлено не было. Амплитуда мВПСТ уменьшалась под действием ИЭМ-1755 в высокой концентрации вдвое слабее, чем у вВПСТ. При этой концентрации различий между блокаторами в действии на мВПСТ обнаружено не было. В то же время при низких концентрациях эффект ИЭМ-1460 был почти вдвое сильнее, чем у ИЭМ-1755 ($20 \pm 2\%$ против $13 \pm 2\%$ соответственно, $p < 0.05$). Кинетика нисходящей фазы мВПСТ ускорялась под действием высокой концентрации обоих блокаторов, с более выраженным эффектом в случае ИЭМ-1755 (уменьшение $\tau_{\text{ау}}$: $38 \pm 3\%$ против $23 \pm 2\%$ для ИЭМ-1460). В то же время, в низкой концентрации ИЭМ-1460 не влиял на кинетику мВПСТ, тогда как эффект ИЭМ-1755 сохранялся ($21 \pm 3\%$).

Таким образом, показано, что эффективность действия изученных блокаторов Ca-AMPA-рецепторов различается для вызванных и миниатюрных ВПСТ, а также по-разному зависит от их концентрации. Полученные данные могут использоваться при разработке новых фармакологических агентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 14-04-00413, 13-04-00224, 12-04-01080).

*С. Л. Малкин
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: adresatt@gmail.com*

АЛЬФА-МЕЛАНОЦИТСТИМУЛИРУЮЩИЙ ГОРМОН ОСЛАБЛЯЕТ
ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОСТРОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ
У КРЫС И СНИЖАЕТ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ
NO-СИНТАЗЫ

Д. Д. Марков, К. А. Яценко, Л. С. Иноземцева,
И. А. Гривенников, О. В. Долотов

*Институт молекулярной генетики РАН
Москва*

В настоящее время очевидна важная роль иммунной системы как в нормальном функционировании нервной системы, так и в развитии психических расстройств и нейродегенеративных заболеваний. Воспалительный ответ может вызывать изменения в поведении, в частности, повышать уровень тревожности, тормозить гедонистическое и пищевое поведение. Меланокортины (пептидное семейство аденокортикотропного и меланоцитстимулирующих (МСГ) гормонов), в связи со способностью проявлять как противовоспалительные, так и поведенческие эффекты, являются одним из возможных модуляторов взаимодействия ЦНС и иммунной системы.

Целью работы являлось изучение влияния периферического введения α -меланоцитстимулирующего гормона (α -МСГ) на поведение крыс в условиях острого системного воспаления, вызванного внутрибрюшинным введением бактериального эндотоксина липополисахарида (ЛПС), и оценка способности α -МСГ регулировать уровни провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β) и индуцибельной NO-синтазы (iNOS), являющихся важными участниками поведенческих эффектов воспалительного ответа.

Нами обнаружено ослабление при внутрибрюшинном введении α -МСГ (100 мкг/кг) вызванного введением ЛПС (25 мкг/кг) повышения уровня тревожности крыс в тесте «открытое поле». Введение α -МСГ ослабляло также вызванное ЛПС снижение предпочтения раствора сахарозы. В то же время, α -МСГ не влиял на вызванные ЛПС торможение исследовательской активности животных и снижение потребления корма. Кроме того, нами не обнаружено влияние этого пептида на уровень TNF- α в сыворотке крови и экспрессию цитокинов TNF- α и IL-1 β в гипофизе, гиппокампе и гипоталамусе крысы. Однако, α -МСГ вызывал снижение экспрессии мРНК iNOS в гипофизе, гиппокампе и гипоталамусе экспериментальных животных.

Полученные данные указывают на способность периферически введенного α -МСГ модулировать влияние системного воспаления на гедонистическое поведение и уровень тревожности, а также возможную вовлеченность iNOS в реализацию поведенческих эффектов пептида.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01690).

*Марков Дмитрий Дмитриевич
Институт молекулярной генетики РАН
123182 Москва, Площадь академика Курчатова, 2
E-mail: gorki-dm@list.ru*

ИЗАТИН И ИЗАТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ
И ИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ РОЛЬ
ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ

А. Е. Медведев, О. А. Бунеева, А. Т. Копылов, О. В. Гнеденко,
В. Г. Згода, А. С. Иванов

*Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН
Москва*

Изатин (2,3-диоксоиндол) – эндогенный регулятор, обнаруженный в организме млекопитающих и человека. Его содержание изменяется в условиях различных видов стресса (в том числе окислительного), а также при ряде патологических состояний, включая болезнь Паркинсона. С помощью меченого тритием изатина в срезах головного мозга крыс обнаружены множественные участки связывания этого регулятора, а протеомное профилирование позволило выявить более 80 различных изатин-связывающих белков, значительная часть которых, по данным ряда авторов, претерпевает окислительную модификацию при болезни Альцгеймера.

Введение нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) мышам приводило к развитию характерных двигательных нарушений. Предварительное введение изатина ослабляло олигокинезию, вызванную введением МФТП. Хотя использованная доза (100 мг/кг) достаточна для торможения моноаминоксидазы В, ответственной за биоактивацию МФТП *in vivo*, данные протеомного анализа свидетельствуют о значительном изменении под влиянием изатина (в 2 и более раз) экспрессии 133 (из 2088 идентифицированных) белков мозга. При этом относительное увеличение обнаружено всего для 5 белков, а уровень белков, кодируемых генами домашнего хозяйства (ГАФД), практически не менялся. Введение нейропротекторной дозы изатина приводило к снижению как общего числа белков, специфически связавшихся с аффинным сорбентом (5-аминоизатин-сефароза), так и изатин-связывающей активности мозга мышей с индуцированным паркинсонизмом.

Среди белков мозга крысы, связывающихся с бета-амилоидным пептидом (1–42), выявлено не менее 15% изатин-связывающих белков. Инкубация гомогенатов мозга с пероксидом водорода существенно влияла на качественный состав идентифицированных белков. Однако в обоих случаях (контроль, инкубация с H₂O₂) изатин тормозил связывание белков мозга с иммобилизованным β-амилоидным пептидом (1–42).

Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что изатин-связывающие белки могут взаимодействовать с бета-амилоидным пептидом и что изатин может участвовать в регуляции взаимодействия этого пептида с различными внутриклеточными мишенями.

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-00942).

*Медведев Алексей Евгеньевич
Институт биомедицинской химии
им. В.Н.Ореховича РАМН
119121 Москва, Погодинская ул., 10
E-mail: professor57@yandex.ru*

ХРОНИЧЕСКОЕ НЕОНАТАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ ФЛУВОКСАМИНА ЗАМЕДЛЯЕТ ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ ДЕТЕНЬШЕЙ БЕЛЫХ КРЫС

С. А. Мерчиева¹, Н. Ю. Глазова², Д. М. Манченко¹,
В. С. Кудрин², Н. Г. Левицкая²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

²Институт молекулярной генетики РАН

Москва

Согласно клиническим данным депрессией страдает около 12% беременных женщин. Для лечения этого заболевания наиболее часто применяют селективные ингибиторы обратного захвата серотонина. Одним из представителей данного класса антидепрессантов является флувоксамин (ФА). Однако последствия перинатального воздействия ФА недостаточно изучены. Поскольку развитие нервной системы крысят в первые недели жизни сопоставимо с развитием плода в последний триместр беременности у человека, моделью для исследования эффектов пренатального воздействия антидепрессанта послужило неонатальное воздействие ФА в течение первых 2 недель жизни крыс. Целью работы являлось изучение влияния ФА на физическое развитие и содержание серотонина и его метаболита 5ГИУК в различных структурах мозга детенышей белых крыс. Крысят каждого выводка делили на 2 группы – контроль и ФА. С 1-го по 14-й день жизни крысятам внутривентрикулярно вводили водный раствор ФА в дозе 10 мкг/кг. Контрольные животные получали аналогичный объем растворителя. Ежедневно регистрировали изменение массы тела крысят, на 6-, 10- и 12-й день жизни оценивали степень созревания моторных рефлексов («рефлекс переворота», «рефлекс отрицательного геотаксиса») и уровень двигательной активности. На 16 день жизни крысят декапитировали и с помощью метода ВЭЖХ определяли содержание серотонина и 5ГИУК в разных структурах мозга.

Наши исследования показали, что хроническое введение ФА приводит к увеличению уровня летальности. Начиная с 6-го дня жизни у крысят, получавших ФА, наблюдалось замедление набора веса относительно контрольных значений. Введение ФА ухудшало показатели в тестах «рефлекс переворота» и «рефлекс отрицательного геотаксиса». Нами также было зарегистрировано увеличение содержания 5ГИУК во фронтальной коре, стриатуме, гипоталамусе и гиппокампе крыс через 2 суток после окончания введения антидепрессанта. Исходя из полученных данных, можно заключить, что хроническое неонатальное введение ФА приводит к замедлению физического и психомоторного развития крыс, что связано с изменением активности серотонинергической системы мозга.

*Мерчиева Светлана Анатольевна
МГУ им. М.В. Ломоносова
119991 Москва, Ленинские горы, 1/12
E-mail: svetlanamerchieva@yandex.ru*

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ
НИГРОСТРИАТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ
ДОСИМПТОМНОЙ И РАННЕЙ СИМПТОМНОЙ СТАДИЙ
БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У МЫШЕЙ

Э. Р. Мингазов, М. В. Угрюмов

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Москва*

Избирательная дегенерация дофаминергических (ДА-ергических) нейронов nigrostriatной системы является причиной двигательных расстройств при болезни Паркинсона (БП). Известно, что при нейродегенеративных заболеваниях дегенерация нейронов начинается с их аксонов и при этом в первую очередь страдает синаптический аппарат. Такими пресинаптическими маркерами ДА-ергических нейронов являются мембранный транспортер дофамина (ДАТ) и везикулярный транспортер моноаминов второго типа (VMAT2). Однако при БП таких данных нет, поэтому цель данной работы оценить степень дегенерации ДА-ергических нейронов, в первую очередь аксонов стриатума, а также компенсаторные механизмы ДА-ергических нейронов на самых ранних стадиях БП. Для воспроизведения досимптомной стадий БП и ранней симптомной стадий БП использовали соответственно 2 и 4 инъекции МФТП в дозе 12 мг/кг с интервалом 2 часа. Пероксидазным моноиммуномечением выявляли тирозингидроксилазу (ТГ), ДАТ и VMAT2 в черной субстанции (ЧС) и в стриатуме. После чего подсчитывали количество ТГ-, ДАТ- и VMAT2-иммунореактивных (ИР) тел нейронов и терминалей аксонов. Также проводили полуколичественный анализ содержания ТГ в телах и терминалях аксонов ДА-ергических нейронов. При двукратном введении МФТП в ЧС наблюдалось снижение ТГ-иммунореактивных (ИР) нейронов на 23%, в стриатуме-снижение количества ТГ-ИР терминалей аксонов снижалось на 53%. Четырехкратное введение МФТП привело к снижению на 39% числа ТГ-ИР нейронов в ЧС и на 70% ТГ-ИР терминалей аксонов в стриатуме. Снижение числа ДАТ- и VMAT2-ИР коррелировала со снижением числа ТГ-ИР и в ЧС, и в стриатуме. С помощью полуколичественного анализа оптической плотности ТГ показано, что при двукратном введении МФТП содержание ТГ в отдельном нейроне ЧС не изменялось по сравнению с контролем, а при четырехкратном введении МФТП наблюдалось увеличение содержания ТГ. Это может свидетельствовать о развитии компенсаторного механизма направленного на увеличение синтеза ДА в ЧС. По сравнению с ЧС в стриатуме при 2 и 4 инъекциях МФТП содержание ТГ в отдельном терминале аксона снижалось, соответственно, на 28 и 26%, что может свидетельствовать о нарушении аксоплазматического транспорта. Таким образом, мы показали коррелирующее снижение числа ДА-ергических нейронов nigrostriatной системы по ТГ-, ДАТ- и VMAT2-ИР, нарушение аксонального транспорта, а также развитие компенсаторного механизма на ранней симптомной стадии БП.

*Мингазов Эдуард Рафилевич
Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26
E-mail: edik173@mail.ru*

ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ
НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ В ПОКАЗАТЕЛЯХ
ТОНИЧЕСКОГО БОЛЕВОГО И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО
ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС

В. А. Михайленко, И. П. Буткевич, В. А. Отеллин

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

Исследовали влияние отдаленных последствий нормобарической гипоксии на показатели болевого и психоэмоционального поведения у крыс линии Вистар. Подопытные самцы и самки в возрасте двух дней были подвергнуты острой нормобарической гипоксии (8% кислорода в дыхательной азотнокислородной газовой смеси) в барокамере в течение 60 мин. Контрольные животные из тех же пометов были помещены в барокамеру, но не подвергались действию гипоксической смеси в барокамере. В возрасте двух месяцев у всех животных исследовали влияние гипоксии на показатели пролонгированного болевого ответа, вызванного инъекцией 2.5% раствора формалина в подошву задней конечности. Через 24 часа после формалинового теста все животные были подвергнуты тесту принудительного плавания (тест Порсолта). Обнаружено, что влияние гипоксии проявилось в усилении второй тонической фазы ответа как в паттернах сгибания+встряхивания ($p=0.015$ и $p=0.004$), так и в паттернах вылизывания ($p=0.003$ и $p=0.015$) у самцов и у самок соответственно. Половой диморфизм выявлен в тонической фазе болевого ответа: у самок число сгибаний+встряхиваний было достоверно выше, чем у самцов ($p=0.016$), тогда как у контрольных особей половые различия в этом показателе выявлены не были. В тесте принудительного плавания влияние гипоксии проявилось в увеличении времени иммобильности как у самцов ($p=0.024$), так и у самок ($p<0.0001$). Обнаружен половой диморфизм у контрольных крыс, у самцов время иммобильности достоверно выше, чем у самок ($p=0.031$). Выявлена отрицательная корреляция между временем иммобильности и числом сгибаний+встряхиваний у контрольных самцов (коэффициент корреляции Пирсона – $r=0.82$, $p=0.001$). Таким образом, обнаружено, что отдаленные последствия влияния гипоксической смеси в раннем постнатальном онтогенезе (двухдневные крысята) проявляются у животных, достигших возраста двух месяцев, в достоверном усилении функциональной активности тонической ноцицептивной системы, о чем свидетельствует увеличение показателей поведенческого болевого ответа в условиях очага воспаления в формалиновом тесте. Обнаружено, что влияние гипоксии достоверно более выражено у самок в болевых паттернах, организованных на спинальном уровне. В тесте принудительного плавания выявлено достоверное снижение уровня адаптивного поведения у крыс обоего пола, со значительным доминированием этого показателя у самок.

*Михайленко Виктор Анатольевич
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: viktormikhailenko@yandex.ru*

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФРАГМЕНТОВ AGRP НА ДОФАМИН- И НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ МОЗГА

А. Л. Михрина

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

В мозге экспрессия агутти-подобного белка (AGRP – agouti-related protein) выявлена в нейронах аркуатного ядра гипоталамуса (АРК), аксоны которых выявлены в областях, где расположены дофамин- и норадренергические нейроны. Показано, что из промоллекулы образуется нескольких фрагментов AGRP, в частности 83-132 и 25-51 (Ollmann et al., 1999). Ранее мы выявили отрицательные корреляции между уровнем AGRP 83–132 и тирозингидроксилазы (ТГ – первый фермент синтеза катехоламинов) в экспериментах *in vivo* и *in vitro* в вентральной тегментарной области (VTA) (Михрина, Романова, 2013), а также в голубом пятне (LC – *locus coeruleus*), где локализованы норадренергические нейроны. Цель настоящей работы – исследовать влияние второго фрагмента AGRP 25–51 на дофамин и норадренергическими нейронами мозга, а также влияние катехоламинов на AGRP-ергические нейроны. На мышах C57Bl/6J были проведены эксперименты *in vitro* и *in vivo*. Переживающие срезы мозга с VTA или LC были инкубированы в среде с 200 нМ AGRP 25–51. С помощью иммуногистохимических методов была выявлена ТГ (в VTA) и дофамин-ветта-гидроксилазы (ДБГ) в LC. Количественный анализ выявил уменьшение оптической плотности ТГ и ДБГ, что, по-видимому, демонстрирует тормозный эффект AGRP 25–51 на дофамин- и норадренергические нейроны. Также в работе рассматриваются возможные механизмы влияния обоих фрагментов на дофамин- и норадренергические нейроны. С помощью двойного иммуномечения и кофокальной микроскопии показана локализация D1-рецепторов дофамина в телах AGRPергических нейронов АРК. После введения селективного антагониста D1-рецепторов (SCH 39166) выявлено уменьшение иммунореактивности AGRP в гипоталамусе. После введения блокатора синтеза ТГ (αМПП, который тормозит синтез всех катехоламинов) выявлено увеличение иммунореактивности AGRP в телах нейронов. Полученные данные демонстрируют функциональную обратную связь между дофамин- и норадренергическими нейронами с AGRPергическими, а также могут свидетельствовать о влиянии норадреналина на выведение AGRP, что, однако, требует дальнейшего исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-01543).

*Михрина Анастасия Леонидовна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: nastya_mihrina@mail.ru*

СОДЕРЖАНИЕ HSE И BDNF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ФЕТОПАТИЕЙ

А.Ю. Морозова, Н.Г. Адреева

*Научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
Санкт-Петербург*

Одной из патологий, ведущей к развитию неврологических расстройств у новорожденных детей, является диабетическая фетопатия (ДФ). Целью данной работы явилось изучение влияния ДФ на содержание нейротрофического фактора мозга (BDNF) и нейроспецифической енолазы (HSE) в сыворотке венозной и пуповинной крови новорожденных как факторов, определяющих нарушение формирования функций ЦНС в раннем онтогенезе. Известно, что нейротрофические факторы, такие как BDNF, являются ингибиторами апоптоза нервных клеток и участвуют в развитии и дифференцировке нейронов головного мозга. Также показано, что увеличение концентрации нейроспецифических белков, таких как HSE, может служить маркером повреждения клеточных мембран нейронов головного мозга. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ДФ приводит к повышению содержания HSE в сыворотке крови доношенных детей с ДФ: в пуповинной крови содержание HSE возрастает в 1.7 раза, а на первые сутки в 1.82 раза по сравнению со значениями у здоровой группы, аналогичная тенденция к повышению показателя наблюдается у недоношенных новорожденных с ДФ. Показано также, что содержание HSE в сыворотке крови доношенных новорожденных с ДФ повышается в 2 раза к первым суткам жизни: содержание HSE сразу после рождения составляет $17,5 \pm 3,43$ мкг/л, а на первые – сутки $32,87 \pm 4,52$ мкг/л. При изучении содержания BDNF у доношенных детей с ДФ было показано достоверное возрастание в 1.4 раза на первые сутки жизни, в то время как у недоношенных детей с ДФ данных изменений не было обнаружено. При сравнении сывороточного уровня содержания BDNF в группе здоровых новорожденных и детей с ДФ было установлено, что у недоношенных детей с ДФ наблюдается снижение содержания BDNF в сыворотке пуповинной крови в 2,5 раза ($p < 0.05$). Аналогичные изменения были выявлены у доношенных детей с ДФ, где отмечается тенденция к снижению содержания BDNF в 1.4 раза по сравнению с группой здоровых детей. На основании полученных данных можно предположить, что при ДФ наблюдаются ишемические повреждения головного мозга, что ведет к нарушению структурной целостности мембран нейрональных клеток, а также наблюдается отставание формирования синаптических окончаний и развития нейронов головного мозга новорожденных.

*Морозова Антонина Юрьевна
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3
E-mail: amor2703@gmail.com*

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
У ЧЕЛОВЕКА С ПОВРЕЖДЁННЫМ ИЛИ НЕЗРЕЛЫМ МОЗГОМ
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МАКСИМАЛЬНЫХ И ПРЕДЕЛЬНЫХ
ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК СТАТИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА
В ПРОЦЕССЕ НЕЙРОРЕАБИЛИТАЦИИ

С. Ю. Мышляев

*Реабилитационный центр
ООО «Клиника доктора Мышляева»
Нижний Новгород*

С позиции доказательной медицины для восстановления функций движения, поведения и речи, вызванных патологическими состояниями мозга до настоящего времени не существует действительно эффективных методов нейрореабилитации.

Известные способы (электромиостимуляция, электрошоктерапия, мануальная терапия, кинезиотерапия, ИРТ и др.), применяемые при реабилитации больных с повреждённым или незрелым мозгом, не отвечают требованию активного включения системных и компенсаторных механизмов адаптации и регуляции процессов восстановления ЦНС и структур головного мозга.

В процессе реабилитации больных со стойкими нарушениями двигательных и интеллектуальных функций в результате нейротравм, инсульта, ДЦП, при олигофрении, шизофрении, эпилепсии, алалии, нами были использованы физические нагрузки статического характера, которые повышались постепенно, вплоть «до отказа патологических функций», в рамках урока и интенсивного занятия.

Методика и способы нейрореабилитации были разработаны в процессе многолетнего изучения механизмов формирования адаптивных и патологических состояний мозга и на основании, сделанного в результате, в 2007 г. научного открытия (диплом № 339, «Явление восстановления структурно-функциональной организации мозга человека в онтогенезе»).

В процессе адаптации к этим нагрузкам у человека с поврежденным или незрелым мозгом отмечалось повышение гемоглобина от 90–100 г/л до 140–150 г/л, как в спорте высших достижений.

Изменения нейрореактивности головного мозга (амплитуда БЭА на ЭЭГ увеличивалась от 5–20 мкВ до 100–120 мкВ) происходило под воздействием дозированного растормаживания генератора патологически усиленного возбуждения, сформированного в результате дизонтогенеза или самого заболевания, физиологическим путем под воздействием максимальных и предельных физических нагрузок на вовлеченные в патологический процесс органы и системы.

Несмотря на регулируемое и временное обострение патологических реакций организма на максимальные и предельные нагрузки, эффективность восстановления функций у ранее неизлечимых больных составила 83%.

*Мышляев Сергей Юрьевич
Реабилитационный центр
ООО «Клиника доктора Мышляева»
603101 Нижний Новгород, ул.Краснодонцев, 1
E-mail: info@kdm52.ru*

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ АЛЬФА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ
МЕМБРАН КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС
АГОНИСТОМ И АНТАГОНИСТОМ БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Л.А. Нестерова, Б.Н. Манухин

*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Москва*

На субклеточных фракциях мембран коры головного мозга крыс исследовано влияние активации и ингибирования β -адренорецепторов изопропилнорадреналином и пропранололом на связывание специфических неселективных антагонистов α_1 - и α_2 -адренорецепторов [^3H]празозина и [^3H]RX821002.

Установлено, что для α_1 - и α_2 -адренорецепторов лиганд-рецепторное взаимодействие соответствует модели: один по аффинности пул рецепторов и присоединение двух молекул лиганда к одному рецептору. Параметры связывания [^3H]празозина – $K_d=1.85\pm 0.16$ нМ, $B_{\max}=31.14\pm 0.35$ фмоль/мг белка, $n=2$. Параметры связывания [^3H]RX821002 – $K_d=1.57\pm 0.27$ нМ, $B_{\max}=7.24\pm 1.63$ фмоль/мг белка, $n=2$. При активации β -адренорецепторов изопропилнорадреналином связывание радиоактивных лигандов с α_1 - и α_2 -адренорецепторами происходит по такой же модели. Чувствительность к [^3H]празозину и количество активных α_1 -адренорецепторов увеличивается на 27% ($K_d=1.36\pm 0.03$ нМ), и 84% ($B_{\max}=57.37\pm 0.28$ фмоль/мг белка) соответственно. Чувствительность α_2 -адренорецепторов к [^3H]RX821002 снижается на 56% ($K_d=3.55\pm 0.02$ нМ), а концентрация активных адренорецепторов увеличивается на 69% ($B_{\max}=12.24\pm 0.06$ фмоль/мг белка). Пропранолол влияет на характер связывания обоих лигандов. Для [^3H]празозина и [^3H]RX821002 определяются два пула рецепторов с параметрами $K_{d1}=1.13\pm 0.09$, $K_{d2}=6.07\pm 1.06$ нМ, $B_{m1}=1.36\pm 1.77$, $B_{m2}=51.09\pm 0.41$ фмоль/мг белка, $n=2$ и $K_{d1}=0.61\pm 0.02$, $K_{d2}=3.41\pm 0.13$ нМ, $B_{m1}=1.88\pm 0.03$, $B_{m2}=9.27\pm 0.08$ фмоль/мг белка, $n=2$ соответственно. Концентрация активных рецепторов (B_{\max}) возрастает в два раза для обоих лигандов.

Предполагается, что α_1 - и α_2 -адренорецепторы в субклеточных фракциях мембран коры головного мозга крыс существуют в виде димеров. Выявлено модулирующее действие изопропилнорадреналина и пропранолола на связывание специфических антагонистов α_1 - и α_2 -адренорецепторами, которое проявляется в активирующем эффекте на параметры связывания [^3H]празозина и ингибиторном эффекте на параметры связывания [^3H]RX821002 и изменении общего характера связывания обоих лигандов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-0085).

*Нестерова Лариса Аидовна
Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26
E-mail: nesterovala@idbras.ru,
manukhinb@mail.ru*

НАРУШЕНИЕ ПАМЯТИ
ВЫЗЫВАЕТ АМНЕЗИЮ ИЛИ «НОВОЕ» ОБУЧЕНИЕ?

В. П. Никитин, С. В. Солнцева, С. А. Козырев

*Научно-исследовательский институт нормальной физиологии
им. П.К. Анохина РАМН
Москва*

Исследованы механизмы реорганизации долговременной памяти условной пищевой аверсии и амнезии, развивающейся при нарушении реконсолидации памяти у виноградных улиток. Обнаружено, что консолидация памяти условной пищевой аверсии зависит от синтеза белков и активности ионотропных рецепторов глутамата. После консолидации происходит продолжительная, развивающаяся во времени реорганизация памяти. В течение 10 дней после обучения выявлено упрочение навыка, воспроизведение которого приводит к реконсолидации памяти. Нарушение реконсолидации ингибиторами синтеза белка или антагонистами рецепторов глутамата вызывает развитие амнезии. В последующем память приобретает устойчивость к реактивирующим и амнестическим воздействиям. Индукция амнезии, возникшей при нарушении реконсолидации памяти антагонистами рецепторов глутамата, зависит от синтеза белков и РНК. Ранняя стадия амнезии продолжительностью менее 10 дней характеризуется градуальным упрочением и возможностью формирования памяти при повторном обучении. Кроме того, на ранней стадии предъявление напоминающих стимулов, сочетанное с действием антагонистов ионотропных рецепторов глутамата или ингибиторов ДНК-метилтрансфераз, приводит к нарушению развития амнезии и восстановлению памяти. Изолированное действие напоминания или указанных веществ было не эффективно. По описанным признакам, процессы, происходящие после реактивации амнезии, сходны с процессами реконсолидации памяти. К 10-му дню после индукции амнезия приобретает устойчивость к реактивирующим воздействиям и к повторному обучению. При этом амнезия специфична по отношению к определенному условному стимулу, поскольку у амнезированных животных вырабатывается аверсивный навык на новую для них пищу. Таким образом, консолидация памяти и амнезии зависят от активности рецепторов глутамата и синтеза белка; в течение ранней стадии реорганизации памяти и амнезии происходит их упрочение; предъявление напоминающих стимулов на ранней стадии вызывает реконсолидацию процессов памяти и амнезии; через 10 дней после индукции указанные приобретают устойчивость к реактивирующим и нарушающим воздействиям. Сходство ключевых характеристик формирования и реорганизации памяти условной пищевой аверсии и, индуцируемой при ее нарушении амнезии, а также специфичность амнезии по отношению к определенному пищевому стимулу, можно рассматривать как новое обучение, в результате которого формируется прочная память о том, что данный вид пищи не может быть опасным, и поэтому повторное обучение не приводит к выработке условной пищевой аверсии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01540).

*Никитин Владимир Павлович
НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН
125009 Москва, ул. Моховая 11, стр. 4
E-mail: nikitin.vp@mail.ru*

МАТЕРИНСКИЙ ЭФФЕКТ ГЕНА LIMK1 – КЛЮЧЕВОГО ФЕРМЕНТА
РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ АКТИНА: ОТ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ ЯДРА К ПОВЕДЕНИЮ

Е. А. Никитина^{1,2}, А. В. Медведева¹, Е. В. Токмачева¹,
А. Н. Каминская³, Т. Л. Паялина¹, Е. В. Савватеева-Попова¹

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

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

³*Научно-исследовательский институт гигиены,
профпатологии и экологии человека
пос. Кузьмовский, Ленинградская область*

В геноме человека выявлены «горячие точки», в которых с высокой частотой наблюдаются перестройки генетического аппарата, что влечет за собой развитие многих синдромов, в том числе синдрома Уильямса. Удобной моделью для сопряжения организации генетического аппарата и физиологических последствий являются мутации с известным биохимическим проявлением, в частности, по гену для LIMK1 – *agnostic*. LIMK1 – ключевой фермент ремоделирования актина – участвует в клеточной сигнализации и узнает белки семейств рецепторов и ионных каналов. У температурочувствительного мутанта дрозофилы *agn^{ts}3* достоверно увеличена частота формирования негомологичных контактов между отдельными дисками политенных хромосом слюнных желез, что свидетельствует о специфичности пространственной организации ядра. Характерная для мутанта организация ядра закладывается на ранних этапах эмбриогенеза, совпадающих с формированием гетерохроматиновых районов хромосом. Поскольку между вторым и третьим часом эмбрионального развития происходит смена программ развития с материнской на зиготическую, а второй этап разрушения материнских мРНК происходит через 12 часов после оплодотворения, то при формировании негомологичных контактов у эмбриона экспрессируются и материнские, и зиготические гены. В результате изучения вклада материнского и отцовского геномов в эктопическую конъюгацию с целью проследить связь между генами, вовлеченными в негомологичное спаривание с районом локализации гена *agnostic* 11В, и особенностями двигательной активности, а также когнитивными функциями, нами выявлен материнский эффект наследования гена LIMK1. Совместная локализация в ядре генов обеспечивает их синхронную экспрессию и является основой широкого фенотипического проявления изучаемых синдромов.

*Никитина Екатерина Александровна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: 21074@mail.ru*

ERK1/2 СИГНАЛЬНЫЙ КАСКАД УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ
СИНТЕЗА И СЕКРЕЦИИ ВАЗОПРЕССИНА НЕЙРОНАМИ
ГИПОТАЛАМУСА

Л. С. Никитина

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

Санкт-Петербургский государственный университет

Целью данной работы было изучение характера и механизмов регуляции ERK1/2 сигнальным каскадом синтеза и секреции вазопрессина нейросекреторными нейронами супраоптического ядра гипоталамуса. Мы показали, что водная депривация, сопровождающаяся активацией синтеза вазопрессина, приводит к повышению активности ERK1/2-каскада и ERK1/2-зависимых транскрипционных факторов Elk1 и CREB в нейронах гипоталамуса. Более того, активация секреции вазопрессина при дегидратации сопровождается повышением активности киназ ERK1/2-каскада в нейрогипофизе. При этом показано снижение количества SNAP-25 и кинезина в нейрогипофизе, что свидетельствует участии этих белков в регуляции секреции вазопрессина. Для выяснения роли ERK1/2-каскада в регуляции секреции вазопрессина были проведены эксперименты в условиях *in vitro* на гипоталамо-гипофизарных срезах и *in vivo* с применением блокаторов ERK1/2 сигнального каскада UO126 и SL327. Мы показали, что инактивация ERK1/2-киназ приводит к снижению уровня секреции вазопрессина в кровь при неизменном содержании вазопрессина в супраоптическом ядре и задней доле гипофиза. Инактивация киназ ERK1/2-каскада приводит также к повышению содержания белков SNARE-комплекса (VAMP2, SNAP25), кинезина и фосфо-синапсина в нейрогипофизе.

Таким образом, впервые показано, что участие киназ ERK1/2-каскада в регуляции секреции вазопрессина опосредовано его влиянием на экспрессию белков экзоцитоза.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-31757).

*Никитина Любовь Сергеевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: lubasun@gmail.com*

МЕЖПОЛУШАРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ
СОДЕРЖАНИЯ СФИНГОМИЕЛИНА В МОЗГЕ КРЫС
ПРИ СТРЕССОРНОМ И ПАТОЛОГИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Н. Ю. Новоселова¹, Н. С. Сапронов², Б. А. Рейхардт²,
П. А. Торкунов³, О. М. Либеранская⁴

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН*

²*Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН*

³*Научно-исследовательский испытательный центр медико-биологической защиты
Государственного НИИ военной медицины МО РФ*

⁴*Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия*

Санкт-Петербург

Сфингомиелин является наиболее насыщенным мембранным фосфолипидом. Благодаря уникальной структуре сфингомиелин представляет собой природный модулятор физических свойств биомембран (снижает или увеличивает плотность упаковки), обладает антиоксидантными (препятствует распространению реакций ПОЛ в липидном бислое, обеспечивает защиту фосфатидилхолина и холестерина) и противовоспалительными (ингибирует фосфолипазную активность с последующим торможением синтеза эйкозаноидов) свойствами (Subbaiah, Sargis, 2001). Доказано участие сфингомиелина в патогенезе нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз и т. д.) (Yadav, Tiwari, 2014; Walter, Faßbender, 2009) и *атеросклероза* (Jiang, Liu, 2013).

Анализ литературы показал, что сведения о межполушарном распределении сфингомиелина в условиях нормы неоднозначны. Так, согласно данным аргентинских исследователей, впервые изучавших содержание и метаболизм липидных соединений разных полушарий в норме и при экспериментальных воздействиях, содержание сфингомиелина оказалось исходно выше (на 30%) в левом полушарии мозга крыс по сравнению с правым (Pediconi, Barrantes, 1990). Однако результаты собственных и других исследований (Агаджанян и др., 2001) не выявили предсуществующих в норме межполушарных различий в количестве каких-либо индивидуальных фосфолипидов. В то же время избирательное увеличение содержания сфингомиелина в левом полушарии мозга крыс было обнаружено нами при имобилизационном стрессе и другими исследователями при действии природного стресс-фактора (геомагнитные бури) (Агаджанян и др., 2001). Преимущественное увеличение содержания сфингомиелина в левом полушарии мозга крыс показано нами также в динамике экспериментального инфаркта миокарда. Несмотря на немногочисленность приведенных данных можно предварительно сделать вывод о возможно особой роли сфингомиелина в механизмах адаптации и повреждений левого полушария.

*Новоселова Нина Юрьевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
193224 Санкт-Петербург, пр. М. Тореза, 44
E-mail: nina.novoselova@mail.ru*

НИТРЕРГИЧЕСКИЕ И НЕЙРОИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА

М. В. Онуфриев¹, И. Л. Каймовский², М. Ю. Степаничев¹,
Ю. В. Моисеева¹, Н. А. Лазарева¹, С. В. Фрейман¹, А. Б. Гехт³, Н. В. Гуляева¹

¹*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН*

²*Межклубное отделение пароксизмальных состояний
и неврологическое отделение Городской клинической больницы №12 ДЗ Москвы*

³*Научно-практический психоневрологический центр ДЗ Москвы*

Москва

Представлены результаты комплексного сравнительного исследования нитре-ргических и нейроиммунных механизмов при экспериментальном (крысы) и клиническом инсульте. В остром периоде инсульта изменения в этих системах зависят от типа и тяжести заболевания. Повышение активности *NO*-синтазы и уровня метаболитов оксида азота в мозге и спинномозговой жидкости сопровождается индукцией иммунного ответа. Прямая корреляция между содержанием иммуноглобулинов в спинномозговой жидкости и связыванием нитротирозин-БСА указывает на выработку аутоантител, специфически распознающих нитрованные белки. В ишемическом полушарии в части Ig-позитивных клеток выявлена колокализация окрашивания с проапоптотическим белком Вах. Полученные результаты свидетельствуют о роли нитрозативного стресса и иммунного ответа в механизмах развития ишемического повреждения мозга.

*Онуфриев Михаил Валерьевич
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5а
E-mail: mikeonuf1@rambler.ru*

НЕЙРОЭНДОКРИННЫЕ МЕХАНИЗМЫ
РАЗВИТИЯ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ
У ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС

Н. Э. Ордян, С. Г. Пивина, В. В. Ракицкая, В. К. Акулова

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

Одной из актуальных проблем современной нейробиологии и медицины является выявление факторов, определяющих предрасположенность к возникновению различных заболеваний, среди которых тревожно-депрессивные расстройства, сопровождающиеся нарушением активности гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС), занимают одно из лидирующих положений в обществе. В качестве таких факторов рассматриваются психоэмоциональные стрессовые воздействия на беременную мать, в результате которых у ее потомков формируется патология функционирования ГГАС с усилением стрессорной реактивности, и в зависимости от пола снижением или увеличением чувствительности системы к сигналам отрицательной обратной связи. В экспериментальной модели депрессии (парадигма «выученная беспомощность») и посттравматического стрессового расстройства (парадигма «стресс-рестресс») нами изучены особенности нейроэндокринного статуса пренатально стрессированных (ПС) крыс в ходе формирования депрессивно-подобного или тревожного состояния. Показано, что у ПС самцов проявления патологии в использованных парадигмах на поведенческом, гормональном, нейрогормональном и рецепторном уровнях не только сохраняются более длительное время, но и имеют принципиальные отличия по сравнению с таковыми у контрольных животных. Это касается, прежде всего, длительно повышенного уровня тревожности, снижения базальной активности ГГАС как на уровне паравентрикулярного ядра гипоталамуса, так и на уровне коры надпочечников, а также увеличения экспрессии белка глюкокортикоидных рецепторов в СА1 поле гиппокампа и зубчатой извилине. На основании полученных данных высказано предположение, что интенсивный стресс, к которому относится неизбежный/неконтролируемый стресс в парадигме «выученная беспомощность», а также комбинированный стресс в парадигме «стресс-рестресс», модифицирует активность ГГАС у ПС животных таким образом, что изменяется чувствительность этой системы к последующим стрессорным воздействиям, например, рестрессу в парадигме «стресс-рестресс». Мы полагаем, что ключевую роль в этом процессе играет низкий уровень кортикостерона на момент предъявления повторного стрессорного воздействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-00583).

*Ордян Наталья Эдуардовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: neo@infran.ru*

ВЛИЯНИЕ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ
ГАМК-ЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ В НЕОКОРТЕКСЕ
В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД У КРЫС

В. А. Отеллин, Л. И. Хожай

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

Гипоксия во время неонатального периода является одной из основных причин возникновения патологии головного мозга у новорожденных, определяемой как перинатальная энцефалопатия, в основе которой, как известно, может лежать изменение citoархитектоники неокортекса, задержка нейроногенеза, пролонгированная гибель части нейронов, приводящие в результате к сокращению численности популяций разных типов нейронов в различных областях коры. Последствия этих нарушений могут проявляться в виде ряда функциональных и нервно-психических расстройств. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), являясь мощным тормозным нейротрансмиттером, осуществляет контроль практически всех функций ЦНС, нейроны, синтезирующие ГАМК присутствуют во всех формациях мозга. Вопрос об особенностях распределения ГАМК-ергических нейронов в неокортексе в ранний постнатальный период как в норме, так и после гипоксического воздействия практически не изучался. Данная работа посвящена исследованию распределения ГАМК-ергических нейронов в разных областях неокортекса (фронтальной, сенсомоторной, зрительной) у крыс в разные сроки постнатального периода развития после воздействия перинатальной гипоксии на модели недоношенной беременности человека. В качестве маркера ГАМК-ергических интернейронов были использованы антитела к одной из изоформ фермента глутамат-декарбоксилазы GAD-67, участвующего в синтезе ГАМК.

Было показано, что воздействие перинатальной гипоксии приводит к существенному снижению (более чем в два раза) количества ГАМК-ергических интернейронов как в верхних, так и глубоких слоях коры в ювенильном возрасте, и эта сокращенная численность интернейронов сохраняется к препубертатному периоду. Причинами резкого снижения числа ГАМК-ергических интернейронов в неокортексе могут быть нарушения процессов миграции клеток предшественников из субвентрикулярной зоны, синтеза факторов, контролирующих миграционные процессы, а также задержка процессов созревания ГАМК-ергических нейронов и более поздняя экспрессия GAD-67. Нарушения тормозной иннервации кортикальных структур могут быть причиной наблюдаемых клиницистами в последующем онтогенезе двигательной гиперактивности, задержки умственного развития и других нейро-психических расстройств как результат постгипоксической энцефалопатии новорожденных.

*Отеллин Владимир Александрович
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: v.otellin@mail.ru*

РОЛЬ AGRP В РЕГУЛЯЦИИ
НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА

Н. М. Паскаренко

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

Известно, что AGRP (agouti related protein) в мозге экспрессируют нейроны аркуатного ядра (АРК) гипоталамуса (Ollman, et al., 1997). Обнаружены морфофункциональные взаимосвязи AGRP- и дофаминергических нейронов, а также выявлен тормозный эффект AGRP (Романова, Михрина, 2013; Михрина, Романова, 2013). AGRP-ергические отростки также выявлены в структурах мозга, где локализованы норадренергические нейроны, в частности в *locus coeruleus* (LC – A4) и *nucleus tract solitari* (NTS – A2; Bagnol, et al., 1999). В экспериментах *in vitro* на переживающих срезах мозга мыши C57BL/6J в LC выявлено уменьшение иммунореактивности тирозингидроксилазы (первого фермента синтеза катехоламинов) после инкубации с AGRP, что также демонстрирует функциональные взаимосвязи между AGRP и норадренергическими нейронами. *Цель настоящего исследования* – выявить морфофункциональные корреляции между AGRP и норадренергическими нейронами, а также морфологические связи AGRP-ергических отростков в LC и NTS. У крыс Вистар после 30-минутного иммобилизационного стресса на фоне отсутствия изменения иммунореактивности AGRP выявлено увеличение иммунореактивности ДБГ (дофамин-бета-гидроксилазы – фермента синтеза норадреналина) в LC. После 6 ч депривации сна (ДС), когда показано увеличение AGRP, в нейронах LC не выявлено достоверных изменений ДБГ по сравнению с контролем, однако на фоне 2 ч постдепривационного сна отмечается увеличение иммунореактивности ДБГ. На фоне введения блокатора синтеза катехоламинов выявлено увеличение иммунореактивности AGRP в нейронах АРК. Двойное флуоресцентное иммуномечение демонстрирует присутствие AGRP-иммунореактивных отростков не только вокруг норадренергических нейронов. Рецепторы меланокортина, через блокаду которых AGRP оказывает влияние как эндогенный антагонист, в LC выявлены как на норадренергических, так и на нейронах другой эргичности. Полученные данные демонстрируют обратную функциональную взаимосвязь между норадренергическими и AGRP-ергическими нейронами, которая может осуществляться как прямым действием AGRP, так и через нейроны другой эргичности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-01543а).

*Паскаренко Наталья Михайловна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
193224 Санкт-Петербург, пр. М. Тореза, 44
E-mail: stepka_89@mail.ru*

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОСТАНОВКИ ПРОЦЕССА
НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Ю. Ф. Пастухов, И. В. Екимова

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

Лечение болезни Паркинсона (БП) начинается поздно, направлено на облегчение симптомов и не может остановить процесс нейродегенерации (НД) [Ugrumov, 2011]. Наиболее серьезной угрозой для выживания нейронов является нарушение укладки белков. Ослабление функции убиквитин-протеасомной системы (УПС) ведет к накоплению токсичных олигомеров α -синуклеина и усилению НД в nigrostriatной системе. Этот механизм играет ключевую роль в патогенезе БП [Пастухов, Чеснокова, 2010; Ebrahimi-Fakhari et al., 2012]. На основе пролонгированного (до 21 дня) умеренного и глубокого снижения функции УПС впервые созданы модели доклинической и клинической стадий БП у крыс Вистар с НД менее 30% дофамин(ДА)-ергических нейронов компактной части черной субстанции (кчЧС) в доклинической и более 60% нейронов в клинической стадии. Модели имитируют основные черты БП и поэтапное нарастание НД и ее последствий [Пастухов и др., 2010; Пастухов, 2013].

Молекулярные шапероны HSP70, в том числе индуцибельный Hsp70 поддерживают нормальную конфигурацию α -синуклеина и могут быть первой линией защиты при НД [Neef et al., 2011]. Ранее найдено, что при дисфункции УПС в модели доклинической стадии БП выживают нейроны кчЧС с повышенным содержанием шаперона Hsp70 [Пастухов и др., 2011]. Эти данные послужили основанием для испытания различных способов доставки Hsp70 с целью ослабления процесса НД в модели клинической стадии БП. Впервые найдено, что внутрибрюшинное введение препарата U-133 (индуктора шаперонов Hsp70 и Hdj1) и микроинъекции Hsp70 в кчЧС предотвращают переход процесса НД из доклинической в клиническую стадию. Доставку Hsp70 в мозг, включая нейроны кчЧС, проводили также путем его повторяющихся интраназальных введений в динамике клинической стадии, когда нейроны уже вступили на путь апоптоза вследствие дисфункции протеасом. Hsp70 останавливает процесс нарастания НД и предупреждает появление нарушений моторного поведения [Пастухов и др., 2014]. Полученные данные могут служить основанием для апробации в клинике препаратов шаперонов и их индукторов, повышающих в мозге уровень Hsp70, с целью разработки превентивного лечения и поиска новых способов остановки процесса НД в клинической стадии БП.

Работа поддержана программой № 5 Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине».

*Пастухов Юрий Федотович
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
193224 Санкт-Петербург, пр. М. Тореца, 44
E-mail: pastukh36@mail.ru*

МАРИНОБУФАГЕНИН МОДУЛИРУЕТ
ПОТЕНЦИАЛОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МЕДЛЕННЫХ
НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ

В. Б. Плахова, Т. Н. Шелых, С. А. Подзорова

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

Эндогенные кардиотонические стероиды присутствуют в системном кровотоке человека в чрезвычайно низких концентрациях. Ранее было показано, что убаин, относящийся к классу карденолидов, модулируют медленные натриевые каналы $Na_v1.8$, взаимодействуя с Na^+,K^+ -АТФазой. Этот трансдуктор – опосредованный механизм связан с активацией дополнительного сайта связывания убаина, являющегося частью аминокислотной последовательности молекулы Na^+,K^+ -АТФазы. Обнаруженный механизм регуляции трансдукторной функции Na^+,K^+ -АТФазы низкими концентрациями убаина позволил предположить, что и другие эндогенные кардиотонические стероиды также могут модулировать возбудимость мембраны ноцицептивного нейрона.

В представленной работе с помощью метода локальной фиксации потенциала и конфокального лазерного сканирующего микроскопа «LSM 710» (фирма Carl Zeiss, Германия) в Центре коллективного пользования «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, было исследовано действие на натриевые каналы $Na_v1.8$ другого представителя эндогенных кардиотонических стероидов – маринобуфагенина, относящегося к классу буфадиенолидов. Наиболее важным стационарным параметром, определяющим процесс первичного кодирования ноцицептивной информации, служит эффективный заряд активационной воротной системы каналов $Na_v1.8$. Полученные результаты свидетельствуют о том, что маринобуфагенин, исследованный в концентрации 10 нмоль/л, статистически достоверно по отношению к контрольным данным вызывал обратимое изменение потенциалочувствительности медленных натриевых каналов $Na_v1.8$.

Эти данные указывают на то, что маринобуфагенин, вероятно, взаимодействует с аминокислотной последовательностью натриевого канала по механизму «модулированного рецептора». Полученные результаты позволяют предположить, что механизм действия этого кардиотонического стероида на мембрану сенсорного нейрона отличается от обнаруженного нами ранее механизма действия карденолидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-00041).

*Плахова Вера Борисовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: verapl@mail.ru*

ВЛИЯНИЕ ТРИСАНА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ ЗАЩИТУ МОЗГА У ПЛОДОВ КРОЛИКА

В. М. Прокопенко^{1,2}, М. М. Габаева¹, Л. А. Назарова¹, Е. В. Базиян¹,
А. А. Яковлева¹, Н. Н. Константинова¹, Н. Г. Павлова¹

¹*Научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
Санкт-Петербург*

²*Санкт-Петербургский государственный университет*

В акушерской практике интранатальная гипоксия плода занимает второе место по частоте оперативного родоразрешения и в 30% случаев является причиной повреждений ЦНС у детей раннего возраста. Спектр препаратов, предназначенных для лечения интранатальной гипоксии, в акушерской практике значительно ограничен. Цель данного исследования состояла в изучении влияния трисана на активность ферментов антиоксидантной защиты в тканях мозга плодов кролика, развивавшихся при нормальном и нарушенном плацентарном кровообращении при индукции родов. Объектом исследования являлись беременные самки кроликов породы «Шиншилла». На 18-й день беременности под эфирным наркозом производили лапаротомию. В одном из рогов матки создавали плацентарную недостаточность путем перевязки части маточных сосудистых ветвей у каждого второго из плодовместилищ (подопытная группа плодов). В другом роге оставались интактные плоды. На 30-й день вызывали сокращение матки внутривенным введением окситоцина. На фоне развития индуцированных маточных сокращений опытной группе вводили 5 мг трисана. Активность глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионтрансферазы (ГТ) определяли спектрофотометрически, интенсивность свободнорадикального окисления (СРО) и общую антиоксидантную активность (ОАА) – хемиллюминиметрически. Интенсивность СРО в мозге интактных плодов контрольной группы самок не отличалась от таковой подопытных плодов, ОАА у подопытных плодов контрольной группы самок была ниже по сравнению с ОАА интактных плодов. Активность ферментов у интактных и подопытных плодов контрольной группы были равнозначны. Введение трисана приводило к снижению интенсивности СРО у интактных и подопытных плодов на 21 и 16,4% ($p < 0,01$) соответственно и снижению ОАА подопытных плодов по сравнению с таковыми у плодов контрольной группы. Активность ГП была ниже у интактных плодов на 53%, у подопытных – на 57% при введении трисана по сравнению с активностью фермента у плодов контрольной группы. Полученные результаты позволяют рассматривать трисан в качестве препарата с умеренным антиоксидантным эффектом, снижающем интранатальный окислительный стресс в ЦНС плодов, развившихся при нормальном и нарушенном плацентарном кровообращении.

*В. М. Прокопенко
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3
E-mail: vmp47@mail.ru*

ПОКАЗАТЕЛИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА
В МОЗГЕ КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ПРЕНАТАЛЬНУЮ
ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЮ

А. В. Пустыгина, Ю. П. Милютина, Т. И. Опарина,
И. В. Залозняя, А. В. Арутюнян

*Научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН
Санкт-Петербург*

Окислительный стресс (ОС), связанный с нарушением баланса между образованием активных форм кислорода и работой компонентов антиоксидантной защиты (АОЗ), вызывает повреждения основных клеточных структур – липидов, белков и нуклеиновых кислот, приводя к серьезным расстройствам клеточного метаболизма, и относится к числу важных патогенетических факторов многих заболеваний. Одним из них является гипергомоцистеинемия (ГГЦ) – накопление в крови серосодержащей аминокислоты гомоцистеина, инициирующего ОС путем самоокисления и образования смешанных дисульфидов. Наиболее значимый патологический результат ГГЦ – дисфункция эндотелия, которая играет важную роль при развитии акушерских патологий, в основе которых лежат нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотоков. Экспериментальную ГГЦ вызывали ежедневным пероральным введением метионина (опытная группа) или воды (контрольная группа) самкам крыс линии Wistar в течение всей беременности. В мозге новорожденных крысят определяли показатели окислительной модификации макромолекул и АОЗ. У новорожденных животных, матери которых в течение всей беременности получали метионин, уровень содержания ГЦ в первый день жизни был выше, и они имели достоверно сниженную по сравнению с контрольной группой массу тела, что подтверждает правильность выбранной нами модели экспериментальной ГГЦ. При этом в мозге исследуемых животных отмечались повышенные уровни показателей перекисного окисления липидов (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида), продуктов окислительной модификации белков и ДНК (8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина – маркера повреждения нуклеиновых кислот), а также снижение величины показателей ферментативного и неферментативного звеньев АОЗ (активности СОД, содержания витамина С и общей АО активности). Результаты проведенных нами исследований согласуются с представлениями о том, что повышенное содержание ГЦ во время беременности приводит к развитию ОС, увеличению риска возникновения структурных и функциональных нарушений центральной нервной системы плода, что может привести к снижению когнитивных функций у потомства.

*Пустыгина Антонина Васильевна
НИИ акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта СЗО РАМН
199034 Санкт-Петербург,
Менделеевская линия, 3
E-mail: apustygina@rambler.ru*

НАРУШЕНИЕ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО ПРОТЕОЛИЗА КАК ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Н. Л. Рендаков, Л. А. Лысенко, Н. Н. Немова

*Институт биологии Карельского НЦ РАН
Петрозаводск*

Многие нейродегенеративные заболевания (НДЗ) являются по своей этиологии протеинопатиями: для них характерно накопление токсичных белков в ткани мозга. В настоящее время интенсивно исследуется значение аутофагии и лизосомального протеолиза в патогенезе различных НДЗ, особенно болезни Альцгеймера. Лизосомальная аутофагия – важный гомеостатический механизм, способствующий удалению ненужных или патогенных белков и имеющий нейропротективный характер. Избыточная активность аутофагии в некоторых случаях приводит к программируемой клеточной смерти 2-го типа, которая может происходить наряду с апоптозом.

Нами была исследована транскрипционная активность генов катепсинов *B*, *D*, *L* и актина (как маркера дегенерации) в мозге крыс при старении, в модели болезни Альцгеймера и при введении нейропротектора (эстрадиола). Болезнь Альцгеймера моделировали на однолетних крысах линии Вистар путем интрацеребрального введения β -амилоидного пептида.

Уровень экспрессии генов *CtsB* и *CtsL* у старых животных был значительно ниже, чем в 14-месячном возрасте. Динамика экспрессии гена *CtsD* описывалась одновершинной кривой с максимумом в 18-месячном возрасте и минимумом – в 30-месячном. Полученные нами данные свидетельствуют о снижении экспрессии генов катепсинов в мозге стареющих животных; это справедливо и для ряда других белков. У крыс, которым в область СА1 гиппокампа вводили β -амилоидный пептид, значительно ухудшалось прохождение поведенческого теста. Данное нарушение сочеталось с повышенной экспрессией гена *CtsD* в правом полушарии головного мозга. При введении эстрадиола на фоне β -амилоидной интоксикации наблюдалось улучшение поведенческих показателей, а также снижение экспрессии гена *CtsD*. Данные флуоресцентной иммуногистохимии свидетельствуют о снижении количества β -амилоида в мозге крыс после введения эстрадиола.

Исследование выполнено на оборудовании ЦКП НО ИБ КарНЦ РАН.

Работа поддержана грантами ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (госконтракт 14.740.11.1034), НШ-1410.2014.4 и РФФИ № 12-04-01597-а.

*Рендаков Николай Львович
Институт биологии Карельского НЦ РАН
185910 Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11
E-mail: nltrend@mail.ru*

ФЕТАЛЬНЫЙ ВАЛЬПРОАТНЫЙ СИНДРОМ И ЕГО КОРРЕКТИРОВКА
С ПОМОЩЬЮ ОРИГИНАЛЬНОГО АНАЛОГА ФРАГМЕНТА
АРГИНИН–ВАЗОПРЕССИНА

Э. Я. Рогозинская, В. Р. Гедзун, А. В. Малышев,
В. П. Голубович, В. А. Дубынин

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Аутизм является одним из относительно часто встречающихся нарушений нервно-психического развития детей. Существенную роль в его генезе играет наследственный фактор; серьёзное влияние оказывают нарушения созревания ЦНС во внутриутробный период и в раннем детстве, родовые травмы. В рамках представленной работы использована модель аутистически-подобной дисфункции нервной системы, возникающей в результате однократного пренатального введения высокой дозы ВПК – вальпроевой кислоты (Stanton et al., 2007). Препарат инъецировался внутривентрикулярно (600 мг/кг) самкам белых крыс на 12,5 день беременности. В качестве соединения с потенциально корректирующими свойствами был использован тетрапептид D-MPRG – оригинальный аналог фрагмента аргинин–вазопрессина, ранее проявивший ноотропные и нейропротекторные свойства при интраназальном введении в малых дозах (Ponomareva et al., 2000). В представленной работе использованы четыре группы животных: контрольная с введением растворителя и три подопытные – с введением только D-MPRG (10 мкг/кг), с инъекцией ВПК и растворителя, с инъекцией ВПК и D-MPRG. Все животные проходили стандартизированное неврологическое и поведенческое тестирование вплоть до возраста 50 дней. Показано, что у крыс, чьи матери подвергались воздействию нейротоксической дозы ВПК, изменен уровень болевой чувствительности, повышена тревожность, снижена исследовательская активность, нарушены многие показатели зоосоциального взаимодействия. В сравнении с ними в группе, получавшей после пренатальной инъекции ВПК интраназальное введение D-MPRG (1–2 недели жизни), значения большого числа показателей возвратились к контрольному уровню: баланс тревожность/ориентировочно-исследовательская активность сдвинут в сторону последнего компонента, снижена депрессивность, нормализована ноцицепция, а также увеличен интерес к зоосоциальному взаимодействию. Коррекция фетального вальпроатного синдрома исследованным пептидом может рассматриваться как еще одно подтверждение перспективности применения производных аргинин–вазопрессина в качестве препаратов, обладающих пролонгированным нейропротекторным действием.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-01200).

*Рогозинская Элина Ярославовна
Биологический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова
119991 Москва, Ленинские горы, 1/12
E-mail: elinamiss007@mail.ru*

РОЛЬ CART-ПЕПТИДА КАК МОДУЛЯТОРА
ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА:
ОНТО- И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

И. В. Романова

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

CART-пептид (cocaine and amphetamine related transcript/peptide) экспрессируется в различных областях мозга. Показано, что CART-пептид участвует в иннервации дофаминергических нейронов мозга. С помощью двойной иммуногистохимии и конфокальной микроскопии выявлены структурные взаимосвязи между CART и дофаминергическими нейронами мозга. У крыс после 6 ч депривации сна выявлено уменьшение иммунореактивности тирозингидроксилазы и CART-пептида, а на фоне 2 ч постдепривационного сна – их увеличение. При этом выявлена колокализация CART-пептида и тирозингидроксилазы в одних нейронах при восстановлении их баланса. В экспериментах *in vitro* после инкубации ткани среднего мозга с CART-пептидом, а также после введения CART-пептида через канюлю выявлено увеличение фосфорилирования тирозингидроксилазы в нейронах черной субстанции, а также увеличение экспрессии c-Fos белка в них. Эти данные демонстрируют активирующее влияние CART-пептида на дофаминергические нейроны. У крыс с генетической предрасположенностью к аудиогенным судорожным припадкам (линия Крушинского–Молодкиной) выявлено снижение иммунореактивности CART-пептида в стриато-нигральных проекциях, в гипоталамусе, в нейронах гипокампа, особенно в зубчатой извилине. На фоне гибели около 30% дофаминергических нейронов черной субстанции крысы (Пастухов и др., 2010) выявлено увеличение иммунореактивности CART-пептида в стриато-нигральных проекциях. Эти данные могут свидетельствовать о протекторных свойствах этого пептида.

Тесная структурная взаимосвязь между CART- и дофаминергическими нейронами наблюдается как в ходе пренатального развития мозга млекопитающих, так и у низших позвоночных (амфибии, рептилии). Мы полагаем, что в ходе развития *tetrapoda* (амфибии, рептилии, млекопитающие) прогрессивное развитие дофаминергической системы (Smeets et al., 2000) происходило на фоне развития и усиления функциональных взаимодействий с CARTергической системой, где CART-пептид обладает полифункциональными свойствами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-01543а).

*Романова Ирина Владимировна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова
193224 Санкт-Петербург, пр. М. Торгашова, 44
E-mail: irinaromanova@mail.ru*

НЕЙРОЭНДОКРИННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Е. А. Рыбникова

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

Гипоксическое посткондиционирование – это новый эффективный способ нейропротекции и структурно-функциональной реабилитации мозга после повреждающих воздействий, основанный на применении сеансов умеренной высотной гипоксии. В докладе обзорного характера будут представлены и обобщены данные, касающиеся роли нейроэндокринных механизмов стресса и адаптации в реализации протективного действия гипоксического посткондиционирования. Особое внимание будет уделено выявлению универсальных и специфических закономерностей реагирования нейроэндокринной системы при компенсации посткондиционированием повреждающего действия факторов различной природы (тяжелая гипоксия, сверхинтенсивные психоэмоциональные стрессы). Повреждающие воздействия вызывали стойкие нарушения функций гипофизарно-адренкортикальной системы (ГАС) как на уровне периферического звена, так и на различных уровнях нейроэндокринной регуляции. У животных, переживших тяжелую гипоксию, в отсроченный период (4–6 суток) выявлялось повышение реактивности ГАС, сопровождавшееся усилением глюкокортикоидного торможения, базисом которого являлось повышение соотношения глюко- и минералокортикоидных рецепторов и подавление экспрессии кортиколиберина в гиппокампе на фоне стимулирующего эффекта в неокортексе. Посткондиционирование нормализовывало активность и реактивность ГАС, экспрессию кортиколиберина, а также значительно снижало баланс глюко-, минералокортикоидных рецепторов в гиппокампе. В условиях патогенного стресса в модели постстрессорной тревожной патологии также наблюдалось резкое повышение реактивности ГАС с включением характерной «быстрой» глюкокортикоидной обратной связи, однако при этом не изменялось соотношение стероидных рецепторов в гиппокампе и неокортексе, но выявлялась стойкая апрегуляция рецепторов кортиколиберина в СА1 гиппокампа и неокортексе. Посткондиционирование способствовало значительной нормализации стрессореактивности ГАС, предотвращало включение «быстрого» торможения и сверхэкспрессию кортиколибериновых рецепторов, а также стойко снижало уровень глюкокортикоидных рецепторов в вентральном гиппокампе. Таким образом, очевидно, что одним из ключевых протективных механизмов гипоксического посткондиционирования является воздействие на нейроэндокринную регуляцию ГАС.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-05-00532).

*Рыбникова Елена Александровна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: rybnikova1@rambler.ru*

ВЛИЯНИЕ АККЛИМАТИЗАЦИИ К СРЕДНЕГОРЬЮ
НА МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ К ГИПОКСИИ:
РОЛЬ ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНОГО ФАКТОРА

Е. А. Рыбникова, О. В. Ветровой, А. В. Чурилова, С. Г. Пивина,
Т. Ю. Лапикова-Бригинская, А. Г. Портниченко, В. И. Портниченко

*Международный центр астрономических и медико-экологических исследований
НАН Украины, Киев, Украина*

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

Исследования проводили на крысах-самцах Вистар, акклиматизированных к условиям среднегорья (на высоте 2 100 м в течение 21 дня). Анализировали устойчивость животных к тяжелой гипоксии (180 мм рт. ст., 3 ч) и стрессу, а также базисные механизмы адаптации к гипоксии, в частности, связанные с активностью фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1). Акклиматизация к среднегорью не влияла на устойчивость животных к тяжелой гипобарической гипоксии (180 мм рт. ст., 3 ч), однако слабый процедурный стресс у акклиматизированных животных способствовал повышению выживаемости на 25%, тогда как на неакклиматизированных животных в условиях равнины подобного эффекта не оказывал. Животные, акклиматизированные к среднегорью, обладали повышенным уровнем кортикостерона в крови, однако выброс глюкокортикоидов в ответ на слабый стресс был снижен. Вместе с тем, пребывание в среднегорье сопровождалось умеренным усилением экспрессии регуляторной α -субъединицы фактора HIF-1 (HIF-1 α) в верхних слоях (но не в V-слое) новой коры и значительно более выраженное – в гиппокампе. В миокарде экспрессия HIF-1 α возрастала в 3,2 раза только в правом желудочке сердца. Похожий эффект в условиях равнины был отмечен при действии многократных сеансов умеренной гипоксии (6 сеансов, 360 мм рт. ст., 2 ч, с интервалом 24 ч), создаваемой в барокамере. Наиболее эффективный в отношении нейропротекции и повышения выживаемости животных режим умеренной гипоксии, включающий трехкратное воздействие, индуцирует существенную (в десятки раз) оверэкспрессию HIF-1 α как в новой коре, так и гиппокампе, тогда как однократное неэффективное воздействие не оказывало значительного влияния на экспрессию HIF-1 α . Однако в миокарде неадаптированных крыс рост экспрессии HIF-1 α в обоих желудочках (в 2–4,4 раза) наблюдался уже при однократном воздействии гипоксии. Таким образом, сравнительные исследования в условиях острой прекондиционирующей и хронической среднегорной гипоксии показали, что для эффективного повышения устойчивости к летальной гипоксии необходима выраженная активация HIF-1 в нейронах головного мозга. Умеренная активация HIF-1, сопровождающая акклиматизацию к среднегорью, очевидно, является недостаточной, однако вероятно создает условия, в которых слабые стрессорные воздействия, способные дополнительно стимулировать HIF-1, могут оказать благоприятный эффект. Поддержано грантом РФФИ № 13-04-90433 и грантом ГФФИ Украины Ф53.4/038.

Поддержано грантом РФФИ № 13-04-90433 и грантом ГФФИ Украины Ф53.4/038.

*Рыбникова Елена Александровна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: rybnikova1@rambler.ru*

МЕХАНИЗМЫ МОДУЛЯЦИИ АФФЕРЕНТНОГО ПОТОКА В ВЕСТИБУЛЯРНОМ ЭПИТЕЛИИ

И. В. Рыжова, D. Demêmes*

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

**INSERM U583. Hôpital Saint Eloi
Montpellier, France*

Сенсорными элементами вестибулярного эпителия являются механочувствительные волосковые клетки I и II типа, апикальная поверхность которых покрыта стереоцилиями, а базальная мембрана контактирует с афферентными волокнами при помощи каликса и бутонообразных синаптических окончаний. Изменение положения головы приводит к механическому смещению куполы, отклонению стереоцилий, деполяризации базальной мембраны и выделению медиатора глутамата, вызывающего изменение проницаемости постсинаптической мембраны в бутонообразных синаптических окончаниях, контактирующих с клетками II типа и в каликсе, окружающем клетки I типа. Задачей настоящего исследования явилось изучение механизмов функциональной пластичности афферентных волокон в бутонообразных и каликовых синаптических контактах.

В электрофизиологических опытах на изолированном вестибулярном аппарате лягушки показано, что в бутонообразных синаптических окончаниях агонист метаботропных глутаматных рецепторов (mGluR) ACPD увеличивал частоту фоновой активности афферентных волокон и ответы на аппликацию AMPA и NMDA. Иммуноцитохимические опыты выявили экспрессию mGluR1 α и mGluR2-3 в клетках вестибулярных ганглиев. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении mGluR в процесс модуляции глутаматэргической синаптической передачи на постсинаптическом уровне.

В каликсе, окружающем клетки I типа, при помощи иммуноцитохимического метода и конфокальной микроскопии была выявлена экспрессия синаптических белков: синаптотагмина, синаптибревина и цисцеин-стринг-протеина. Выявленные белки, а также ранее обнаруженные компоненты SNARE машины: SNAP 25, синтаксин (Neuroscience 2000, 98, 337-384), синаптофизин, синапсин (J. Neurosci., 1988, 8, 4640-4645) и Rab 3a (Dev. Brain Res. 1997, 99, 103-111), являются компонентами молекулярной машины экзоцитоза в каликсе, что предполагает секреторную роль каликса и его коллатералей.

Мы предполагаем, что функциональная пластичность вестибулярного эпителия осуществляется посредством различных механизмов ауторегуляции, и что на уровне вестибулярного эпителия осуществляется предварительная обработка сенсорного потока до его передачи в центральную нервную систему.

*Рыжова Ирина Викторовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: irenerzhova@mail.ru*

МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ: НОВЫЕ МОЛЕКУЛЫ-МИШЕНИ
ДЛЯ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

А. Б. Салмина, Н. В. Кувачева, Н. А. Малиновская, Ю. К. Комлева,
А. В. Моргун, Е. А. Пожиленкова, О. Л. Лопатина, Е. Д. Хилажева

*Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого*

Функциональные взаимодействия между нейронами, глиальными и сосудистыми клетками в нейроваскулярной единице очень важны в контексте патогенеза нейродегенеративных расстройств. Нейрон-астроглиальные взаимодействия реализуются преимущественно за счет механизмов метаболического сопряжения (регулируемого межклеточным транспортом НАД⁺, лактата, глутамата, глутаминна), астроцит-эндотелиальные – за счет механизма глиоваскулярного контроля, опосредованного аккумуляцией во внеклеточном пространстве лактата и протонов водорода. Широкий спектр нейротрансмиттеров и глиотрансмиттеров определяет характер межклеточных взаимодействий в (пато)физиологических условиях. Развитие хронической нейродегенерации ассоциировано с астроглиозом, активацией микроглии, нарушением НАД⁺-зависимых механизмов нейрон-астроглиального метаболического сопряжения, нарушением структуры тесных контактов и межклеточных взаимодействий в пределах нейроваскулярной единицы, развитием апоптоза, ремоделированием глии. Удобной моделью для понимания механизмов межклеточных взаимодействий является нейровоспаление. Представления о патогенезе нейровоспаления претерпели значительную эволюцию: нейровоспаление традиционно ассоциировалось с реализацией цитотоксического потенциала клеток микроглии и развитием окислительного стресса, однако в последнее время все больший интерес представляет оценка роли астроглиальной активации в нейровоспалении, механизмов локальной гиперпродукции цитокинов, формирования внутриклеточных мультибелковых комплексов (инфламмасом), изменения экспрессии молекул, определяющих характер межклеточных взаимодействий. Нейровоспаление оказывает существенное влияние на структурную и функциональную пластичность мозга, в том числе за счет воздействия на ключевые события нейрогенеза, нарушения которого сопровождаются хронической нейродегенерацией. Существование нейрогенных ниш с участием эндотелиальных клеток, астроцитов, микроглии, нейронов и потомков клеток-предшественников доказывает важную роль формирования локального микроокружения, необходимого для пролиферации стволовых и прогениторных клеток, дифференцировки и миграции зрелых клеток нейрональной и глиальной природы, и определяет возможность идентификации новых молекул-мишеней для управления межклеточными взаимодействиями, определяющими функциональное сопряжение между процессами нейровоспаления и нейродегенерации.

Работа выполнена при поддержке гранта Совета по грантам Президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ РФ (НШ-1172.2014.7)

*Салмина Алла Борисовна
Красноярский государственный медицинский
университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
660022 Красноярск, ул. П. Железняка, 1
E-mail: allasalmina@mail.ru*

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ
ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ:
ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

М. О. Самойлов

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

В докладе будут обобщены результаты многолетних исследований сотрудников Лаборатории регуляции функций нейронов мозга и Лаборатории нейроэндокринологии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, касающиеся раскрытия нейрохимических механизмов повышения толерантности нейронов уязвимых областей мозга (неокортекса, гиппокампа) к повреждающим воздействиям (тяжелым формам гипоксии, стресса) с помощью инновационного немедикаментозного способа preconditionирования (ПК) умеренной гипобарической гипоксией (УГГ). Будет освещена роль в этом процессе семейств проадаптивных генов и их продуктов – транскрипционных факторов (NGFI-A, c-Fos, pCREB, NF- κ B, HIF-1 α , минералокортикоидных рецепторов), а также нейропротективных белков (антиоксидантов, нейротрофинов, антиапоптотических факторов семейства Bcl-2). Особое внимание будет уделено анализу выбора режимов ПК УГГ для оптимальной активации молекулярных внутриклеточных защитных механизмов, необходимой для индукции эффективной нейропротекции. Одним из перспективных направлений исследований в этой области является установление роли эпигенетических факторов, участвующих в запуске указанных выше молекулярных нейропротективных механизмов. Расшифровка этого процесса, а также анализ характера экспрессии ключевых молекулярных мишеней, индуцируемой гипоксическим ПК, должны способствовать разработке новых средств нейропротекции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты 13-04-90433, 14-04-00516).

*Самойлов Михаил Олегович
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: samoilov@pavlov.infran.ru*

ВЛИЯНИЕ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА ЭКСПРЕССИЮ АЦЕТИЛИРОВАННЫХ ФОРМ ГИСТОНОВ В НЕОКОРТЕКСЕ КРЫС

М. О. Самойлов, А. В. Чурилова, М. В. Сидорова

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

Установлено, что эпигенетические факторы, в частности, гистоны H3, H4, вовлекаются в механизмы регуляции экспрессии генов нейронов мозга в ответ на различные адаптогенные и патогенные воздействия. При этом активация ацетилированных и метилированных форм гистонов оказывает различный эффект на данный процесс. В последние годы внимание исследователей привлечено к изучению роли этих эпигенетических факторов в клеточных реакциях на гипоксию. Однако до сих пор имеется мало исследований, касающихся характера участия различных форм гистонов в молекулярных механизмах формирования реакций нейронов мозга на повреждающую и, особенно, адаптогенную (протективную) гипоксию.

В настоящей работе с использованием иммуноцитохимического метода проводилось изучение особенностей влияния гипобарической гипоксии, предъявляемой крысам в различных режимах (тяжелой повреждающей (ТГ), умеренной прекондиционирующей (УГ) и при их сочетании), на экспрессию ацетилированных гистонов (АГ) H3, H4 в неокортексе (II–III и V слоях).

Выявлено, что ТГ (через 3–24 ч) подавляет (на 50–100% от контроля) интенсивность экспрессии АГ как H3, так и H4. В то же время трех-, но не однократное, воздействие УГ индуцирует выраженное повышение их экспрессии, особенно АГ H3 (до 600%). Подобная картина наблюдается также у крыс, перенесших трехкратно прекондиционированную ТГ. Обнаружены особенности пространственно-временного паттерна экспрессии АГ H3, H4 в ответ на предъявление различных режимов гипобарической гипоксии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-00516).

*Самойлов Михаил Олегович
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: samoilov@pavlov.infran.ru*

ГАМК–NO-ЕРГИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В ПРИЛЕЖАЩЕМ ЯДРЕ
(*N. ACCUMBENS*) В ХОДЕ ТОРМОЖЕНИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО
ПОВЕДЕНИЯ СИГНАЛАМИ ОПАСНОСТИ

Н. Б. Саульская

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

Способность перестраивать реализуемое поведение при появлении признаков опасности является необходимым условием выживания особи. Однако структурные и нейрохимические механизмы, лежащие в основе экстренной смены поведенческих программ при появлении стимулов, вызывающих страх, изучены недостаточно. Цель работы заключалась в изучении роли ГАМК–NO-ергического взаимодействия в прилежащем ядре в передаче влияния страха на исследовательское поведение. На крысах линии Спрег-Доули методом прижизненного внутримозгового микродиализа в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией установлено, что исследовательское поведение сопровождается увеличением уровня внеклеточного цитруллина (сопродукта синтеза NO) в медиальном отделе прилежащего ядра (мПЯ), который предотвращается введениями в мПЯ ингибитора нейронной изоформы NO синтазы 7-нитроиндазола (0.5 мМ), что свидетельствует об активации нейронной NO-синтазы и, возможно, об усилении продукции NO в мПЯ во время исследовательской активности. Предъявление животным во время исследовательского поведения тона, ранее сочетавшегося с болевым раздражением, предотвращает подъем уровня цитруллина в мПЯ, вызываемый исследовательской активностью и тормозит исследовательское поведение. Такие нейрохимические и поведенческие эффекты не наблюдаются у животных, ранее подвергнутых разрозненным предъявлениям тона и болевого раздражения, для которых тон не ассоциируется с болевым раздражением. Введения в мПЯ антагониста ГАМКа рецепторов биккуллина (20 мкМ) частично восстанавливают рост уровня цитруллина в мПЯ в ходе исследовательского поведения, заторможенный предъявлением тона, ассоциируемого с болевым раздражением, и предотвращают торможение тоном исследовательской активности. Эти данные демонстрируют, что исследовательское поведение активирует нитрергическую систему мПЯ, а сигналы опасности тормозят такую нитрергическую активацию и само исследовательское поведение за счет активации ГАМКа рецепторов мПЯ. В целом, полученные данные свидетельствуют, что нитререгическая система мПЯ может быть вовлечена в передачу тормозящих влияний страха на исследовательское поведение.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 10-04-00397).

*Саульская Наталья Борисовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: nbs@infran.ru*

УЧАСТИЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ *B* В МЕХАНИЗМАХ
ГИПОБАРИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ:
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЙ УРОВНИ

Д. Г. Семенов, А. В. Беляков, Е. Лазаревич

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

*Медицинский исследовательский центр им. М. Моссаковского ПАН
Варшава, Польша*

Гипоксическое прекондиционирование активирует в нейронах сигнальные пути выживания, препятствующие их некротической или апоптотической гибели в случае последующего воздействия тяжелой гипоксии/ишемии. Одним из узловых сигнальных энзимов, контролирующих антиапоптозные процессы, инициируемые стрессом вообще и гипоксическим прекондиционированием, в частности, является протеинкиназа *B* (Akt). В настоящей работе мы исследуем вовлечение Akt в нейропротективные механизмы, активируемые повторяющейся умеренной гипобарической гипоксией (ЗУГГ). Иммуноцитохимически определялась экспрессия фосфорилированного Akt (pAkt) на гистологических препаратах гиппокампа, пириформной коры и неокортекса крыс, полученных на 0, 3 и 24 часах после завершения 1-, 2- и 3-й процедуры УГГ. Обнаружено, что каждая из последовательных процедур УГГ в пределах 3 часов достоверно повышала уровень экспрессии pAkt, а к 24 часам снижала ее. Указанная динамика имела специфичные черты для каждого отдела мозга.

В поведенческих экспериментах (приподнятый крестообразный лабиринт) стандартными тестами оценивался уровень тревожности у 2-х групп животных, перенесших тяжелую гипобарическую гипоксию (ТГГ) после ЗУГГ прекондиционирования. В группе (1) в период каждой сессии УГГ животным интравентрикулярно через предварительно вживленную канюлю вводили ингибитор PI3K вортманнин (2 мкл, 2 мМ/мл), что блокировало фосфорилирование Akt. Группа (2) подвергалась sham-инъекции физиологического раствора. Тестирование проводилось через 24 часа после ТГГ. В группе 1 по сравнению с группой 2 отмечено достоверное снижение времени пребывания в открытых рукавах, числа стоек и свешиваний, что свидетельствует о повышенном уровне тревожности, характерном для животных, перенесших ТГГ (Рыбникова и др., 2013), что свидетельствует об анксиолитическом эффекте ЗУГГ прекондиционирования.

Таким образом, нами установлено, что в формирование стойкой гипоксической толерантности мозга, вызываемой умеренной гипобарической гипоксией, вовлечено кратковременное усиление фосфорилирования Akt в различных его отделах, отмечаемое в пределах 3 часов после каждой процедуры ЗУГГ прекондиционирования.

*Семенов Дмитрий Германович
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: belyakov07@gmail.com*

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИНДИВИДУАЛЬНО-ТИПОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ
ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС С УРОВНЕМ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ
БЕЛКА В НОРМЕ И В УСЛОВИЯХ КОРТИКОЛИБЕРИНОВОГО СТРЕССА

О. Г. Семенова, А. В. Притворова

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

При моделировании постстрессорной депрессии в эксперименте нами было установлено, что одной из причин развития разных типов психопатологии является исходная стратегия приспособительного поведения. Как показали наши исследования, группа активных крыс линии Вистар, отобранных с помощью Т-образного лабиринта, объединяет низко- и высокотревожных особей с разной индивидуальной чувствительностью к действию кортиколиберина. Одновременно установлено, что животные, имеющие различия в индивидуально-типологических характеристиках нервной системы, отличаются по ряду биохимических параметров, таких как энергетический и белковый обмены в мозге. Степень свободно-радикального окисления биомолекул в клетке является одним из тех стимулов, которые помогают включить адаптацию организма на клеточном уровне. В связи с этим, в задачу данного исследования входило изучение изменения уровня окислительной модификации белков (ОМБ) в гипоталамусе и коре больших полушарий у активных крыс линии Вистар, изначально отличающихся по тревожности, в ответ на кортиколибериновый стресс.

В Т-образном лабиринте из крыс Вистар отбирали активных особей. Затем при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) выделяли низко- и высокотревожных особей. Каждому животному под наркозом по стереотаксическим координатам вживляли колодки со стальными канюлями для введения растворов в третий мозговой желудочек. Контрольным особям вводили физиологические раствор, опытным – кортиколиберин (КЛ), затем через 30 мин эффект вводимых веществ исследовали в ПКЛ. После тестирования крысы были декапитированы. В коре больших полушарий и гипоталамусе был определен уровень ОМБ по методу Levine et al. (1990). На введение КЛ высокотревожные активные крысы (ВТ) продемонстрировали по сравнению с контролем снижение уровня реактивной тревожности, тогда как у низкотревожных (НТ) особей КЛ выявил тенденцию к повышению тревожности. После введения КЛ ОМБ в коре НТ практически не изменяется, тогда как у ВТ снижаются и спонтанная (СОМБ) и индуцированная (ФОМБ) составляющие ОМБ. В гипоталамусе после введения CRF у НТ СОМБ снижается, а у ВТ СОМБ увеличивается. Таким образом, у НТ повышение уровня тревожности при кортиколибериновом стрессе происходит в результате активации процессов ОМБ в гипоталамусе этих животных. Тогда как снижение уровня тревожности у ВТ в ответ на воздействие КЛ связано с процессами ОМБ и в коре, и в гипоталамусе.

*Семенова Ольга Геннадьевна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: sts@infran.ru*

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ
НА ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНОГО
ФАКТОРА HIF-1 α В НЕОКОРТЕКСЕ КРЫС

М. В. Сидорова, Т. С. Глушенко, М. О.Самойлов

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

HIF-1 (Hypoxia-inducible factor-1) – транскрипционный фактор, ведущий регулятор генов млекопитающих, ответственных за реакцию на недостаток кислорода. Он активируется в важных участках регуляции кислородных путей, обеспечивая быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс. Тяжелая гипобарическая гипоксия вызывает структурно-функциональные повреждения нейронов чувствительных образований мозга. Воздействия умеренной гипобарической гипоксией (УГГ) способны активировать эндогенные защитные механизмы и индуцировать толерантность нейронов мозга к последующим повреждающим воздействиям. Нейропротективный эффект прекондиционирующих воздействий зависит от ряда параметров, в частности, кратности гипоксических воздействий. В настоящей работе оценивали влияние умеренной и тяжелой гипобарической гипоксии, а также их сочетанного действия на характер экспрессии HIF-1 α в нейронах неокортекса крыс.

Тяжелая гипобарическая гипоксия (ТГ) приводит к существенному подавлению экспрессии HIF-1 α в нейронах неокортекса. Однократные сеансы УГГ, а также сеансы однократной УГГ вместе с ТГ (1УГГ+ТГ) незначительно повышают интенсивность экспрессии HIF-1 α . Вместе с тем, трехкратное воздействие УГГ оказывает выраженный стимулирующий эффект на экспрессию HIF-1 α (на 1200–1400% в V и 485% – во II–III слоях неокортекса по отношению к контролю). Трехкратное воздействие УГГ с последующей тяжелой гипоксией (3УГГ+ТГ) также вызывает гиперэкспрессию HIF-1 α (на 900% в V и 460% – во II–III слоях неокортекса по отношению к контролю через 3–24 часа после ТГ).

Таким образом установлено, что трехкратная экспозиция УГГ оказывает наиболее выраженный эффект на активность HIF-1 α , существенно повышая экспрессию его регуляторной кислород-чувствительной альфа-субъединицы в нейронах неокортекса крыс. Также было выявлено, что трехкратное (но не однократное) прекондиционирование вызывает значительное усиление экспрессии HIF-1 α в клетках неокортекса в ответ на последующую ТГ, тогда как у непрекондиционированных животных ТГ выражено снижала уровень HIF-1 α в коре мозга крыс.

Полученные результаты свидетельствуют о важной роли HIF-1 α в механизмах формирования гипоксической толерантности мозга, индуцируемых прекондиционированием трехкратной УГГ.

*Сидорова Мария Владимировна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: mariav4@mail.ru*

УТРАТА СПОСОБНОСТИ СИНТЕЗИРОВАТЬ ОСНОВНОЙ
НЕЙРОМЕДИАТОР КАК ЭТАП ГИБЕЛИ НЕЙРОНА
ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ

М. Ю. Степаничев, Ю. В. Моисеева, Н. А. Лазарева,
Г. Р. Тухбатова, С. В. Саложин, Н. В. Гуляева

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
Москва*

Несмотря на активные исследования, нейродегенеративные заболевания (НДЗ) остаются вызовом для исследователей в области нейробиологии. Современные методы лечения НДЗ не приводят к выздоровлению пациентов. Это обусловлено, в частности, отсутствием полного понимания патогенеза НДЗ. Основной характеристикой большинства НДЗ является гибель популяций нейронов, как правило, обладающих сходной медиаторной специфичностью и расположенных в определенных областях головного мозга. В то же время клиническая манифестация этих заболеваний происходит тогда, когда степень дегенерации нейронов значительна и дальнейшая их гибель уже не может быть предотвращена. По-видимому, дегенеративные изменения в клетках начинаются намного раньше, чем возникают клинические симптомы патологии. Вместе с тем, остается неизвестным механизм запуска развития патологии. Начало нейродегенеративного процесса может быть связано с изменением трофического обеспечения нейронов, в частности, недостаточной продукцией, секрецией, аберрантным процессингом и/или рецепцией нейротрофических факторов семейства нейротрофинов. Известно, что нарушения созревания этих факторов могут быть связаны с интенсификацией окислительно-нитрозативного стресса, который является неотъемлемым механизмом НДЗ. Важной характеристикой начала нейродегенеративного процесса в мозге является нарушение синтеза белка, вызванное дисфункцией рибосом. Это может, в частности, объяснять появление на ранних стадиях заболеваний нейромедиаторного дефицита, в результате значительного снижения содержания и/или полного исчезновения основных ферментов синтеза нейромедиаторов в нейронах. На модели нейродегенерации у крыс, вызванной β -амилоидным пептидом (25–35), нами было показано снижение числа нейронов, экспрессирующих холинацетилтрансферазу (ХАТ), в медиальной перегородке. При этом не отмечалось выраженной клеточной гибели. Более того, уровень экспрессии мРНК ХАТ в этом отделе мозга был сходен с таковым у контрольных животных. Это дало основания предположить, что снижение уровня ХАТ могло быть связано с нарушением трансляции. Известно, что холинергические нейроны подвержены нейродегенерации при болезни Альцгеймера. Можно предположить, что нарушение экспрессии ХАТ и утрата медиаторной специфичности является первым и определяющим дальнейшую судьбу нейрона звеном в развитии нейродегенеративной патологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-01019а).

*Степаничев Михаил Юрьевич
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бултерова, 5А
E-mail: m_step@pochta.ru*

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ГИПОКСИЯ МОДИФИЦИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ
ТИОРЕДОКСИНА-1 В ГИППОКАМПЕ КРЫС

С. А. Строев, Е. И. Тюлькова, Л. А. Ватаева, М. Т. Миеттинен

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

*Отдел анатомии, Школа медицины Университета г. Тампере
Финляндия*

В настоящей работе методом иммуноцитохимии было исследовано общее количество экспрессирующих тиоредоксин-1 (Tx-1) нейронов в областях СА1, СА2 и СА3 гиппокампа перенёсших пренатальную гипоксию крыс на 14–15-й день их последующего постнатального развития. При этом крысы первой группы родились у самок, перенёсших тяжёлую гипоксию (180 мм рт. ст., 3 часа) трёхкратно на 14-, 15- и 16-ом дне беременности, а крысы второй группы – у самок, перенёсших такое же воздействие, но на 19-, 20- и 21-ом дне беременности.

Было показано, что на 14–15-е сутки постнатального онтогенеза у крысят, перенёсших гипоксию на 14–16-е сутки их пренатального развития, общее число экспрессирующих тиоредоксин-1 нейронов составило 78,8±6,8% в СА1, 115,1±6,9% – в СА2 и 127,0±7,4% – в СА3 по сравнению с интактными крысятами того же возраста и той же линии. В то же время, на 14–15-е сутки постнатального онтогенеза у крысят, перенёсших гипоксию на 19–21-е сутки их пренатального развития, общее число экспрессирующих тиоредоксин-1 нейронов составило 97,7±8,1% в СА1, 94,2±15,0% – в СА2 и 98,4±14,6% – в СА3 по сравнению с интактными крысятами того же возраста и той же линии. Таким образом, у крысят, перенёсших гипоксию на 14–16-е сутки пренатального онтогенеза, в последующем постнатальном развитии уровень экспрессии тиоредоксина-1 в нейронах гиппокампа был заметно модифицирован: имел тенденцию к снижению в СА1 и к повышению – в СА3. Напротив, у крысят, перенёсших гипоксию на 19–21-е сутки пренатального развития, экспрессия тиоредоксина-1 в нейронах всех трёх исследованных областей гиппокампа абсолютно не отличалась от таковой у контрольных интактных животных. Полученные результаты подтверждают вывод о том, что 14–16-е сутки пренатального развития являются критическим периодом для формирования нормального функционального состояния мозга и, в частности, его защитных антиоксидантных систем.

Исследование поддержано грантами РФФИ № 08-04-00655 А и № 13-04-00812 А, Университета г. Тампере за 2010 г. и 2011 г. и Финского культурного фонда (Suomen Kulttuurirahasto) за 2014 г.

*Строев Сергей Александрович
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: s_stroev@hotmail.com*

ВНУТРИЧЕРЕПНАЯ МИГРАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Ю. П. Стукач

Институт физиологии НАН Беларуси

Минск, Беларусь

Последствия повреждений различных участков мозга с трудом купируются. Одним из современных вариантов терапии является применение стволовых клеток для восстановления нейронных сетей в поврежденном мозге. С этой целью традиционно стволовые клетки вводят внутривенно или непосредственно в поврежденный участок мозга. Альтернативным путем является проникновение стволовых клеток в различные участки мозга после их интраназальной аппликации под слизистую оболочку носа, что и было задачей исследования.

Мезенхимальные стволовые клетки, выделенные из жировой ткани крыс, культивировали на протяжении 10 дней в питательной среде DMEM с низким содержанием глюкозы («Sigma») с добавлением 5% фетальной бычьей сыворотки («Sigma»). Непосредственно перед введением животным клетки метили флуоресцентным красителем PKH67 Green Fluorescent Cell Linker («Sigma»). Моделирование травмы у наркотизированных белых крыс-самцов осуществляли путем экстирпации участка ткани мозга размером 2×4 мм в области прецентральной извилины. Затем меченые стволовые клетки вводили под слизистую оболочку носа. Участки мозга в области травмы, обонятельных луковиц, лобных долей и гиппокампа выделяли через 24 часа после введения клеток. Препараты для флуоресцентной микроскопии на конфокальном микроскопе готовили методом раздавленной капли (Zeiss AxioVert 200M inverted research, камера: Zeiss AxioCam HRm, объектив: Plan-Neofluar 40x/0.75).

Обнаружено, что через сутки меченые стволовые клетки проникают в обонятельные луковицы, значительно меньше их визуализировалось в лобных долях и гиппокампе. В участке травмы наблюдали меченые клетки в количестве, сопоставимом с таковым в области обонятельных луковиц. Пространственное распределение клеток непосредственно около участка травмы представляло собой область вытянутых цепочек, в отличие от диффузного распределения стволовых клеток в других участках мозга. Этот факт подтверждает особенности взаимодействия стволовых клеток с поврежденными участками мозга.

На основании полученных данных можно заключить, что метод интраназального введения стволовых клеток является одним из вариантов манипуляций при репарации нейронных сетей с целью восстановления их функций.

Стукач Юлия Павловна

Институт физиологии НАН Беларуси

Беларусь, 220072 Минск, ул. Академическая, 28

E-mail: stukachyulya@gmail.com

НИТРЕРГИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ МЕДИАЛЬНОЙ
ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ
УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОЙ РЕАКЦИИ СТРАХА

П. В. Судоргина, Н. Б. Саульская

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

На крысах линии Спрег-Доули методом прижизненного внутримозгового микродиализа исследованы изменения активности нитрергической системы медиальной префронтальной коры (мПК) в ходе выработки условнорефлекторной реакции страха (УРС) (сочетание условного сигнала и болевого раздражения), в ходе ее реализации (предъявление условного сигнала, ранее сочетавшегося с болевым раздражением), а также в ходе дифференцировочной сессии при предъявлении дифференцировочного сигнала, не ассоциируемого с болевым раздражением (тест на генерализацию УРС). Степень формирования УРС и ее генерализации оценивалась по замиранию животного при предъявлении, соответственно, условного и дифференцировочного сигналов. В качестве прижизненного показателя активности нитрергической системы мПК был использован микродиализный мониторинг внеклеточного цитруллина (со-продукта синтеза *NO*). Было показано, что выработка УРС сопровождается подъемом в мПК уровня внеклеточного цитруллина, который почти полностью предотвращается введениями в эту структуру селективного ингибитора нейронной *NO*-синтазы *N*-пропил-*L*-аргинина (1 мМ). Реализация УРС также приводила к значительному росту уровня внеклеточного цитруллина в мПК и вызывала замирание животных (показатель страха). Небольшой, но достоверный подъем уровня внеклеточного цитруллина в мПЯ имел место в ходе дифференцировочной сессии. Однако выраженность такого подъема была ниже, чем при реализации УРС. В ходе дифференцировочной сессии наблюдался разброс между крысами по замиранию на дифференцировочный раздражитель, отражающий различную степень генерализации УРС. Крысы с низким уровнем замирания на дифференцировочный раздражитель характеризовались более высоким подъемом уровня внеклеточного цитруллина в мПК во время обучения по сравнению с животными, демонстрировавшими впоследствии высокий уровень замирания на дифференцировочный раздражитель. Полученные данные впервые свидетельствуют, что выработка УРС сопровождается активацией нитрергической системы мПК, которая возможно препятствует генерализации УРС.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00285).

*Судоргина Полина Вячеславовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: nbs@infran.ru*

СЕМАКС НОРМАЛИЗУЕТ СОДЕРЖАНИЕ BDNF
В ГИППОКАМПЕ И ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС,
ПЕРЕНЕСШИХ ОСТРУЮ НЕОНАТАЛЬНУЮ ГИПОКСИЮ

Ю. А. Суханова*, Е. А. Себенцова, Н. Ю. Глазова, Д. М. Манченко*,
Л. С. Иноземцева, Л. А. Андреева, Н. Г. Левицкая

Институт молекулярной генетики РАН, Москва

**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

Среди причин, повреждающих центральную нервную систему (ЦНС) у новорожденных, гипоксия занимает первую позицию. В ответ на повреждения ЦНС в мозге возрастает содержание нейротрофического фактора мозга – BDNF. Изменение уровня BDNF позволяет с большой вероятностью прогнозировать формирование структурных изменений головного мозга. Меланокортины обладают нейропротекторным и нейротрофическим действием. Нейротрофические эффекты пептидов этого класса были продемонстрированы во многих экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Гептапептид семакс является синтетическим аналогом фрагмента адренокортикотропного гормона (АКТГ₄₋₁₀), в настоящее время данный препарат применяется в медицине в качестве ноотропного лекарственного средства. Целью данного исследования явилось изучение долговременных изменений уровня BDNF у крыс, перенесших острую нормобарическую гипоксию (ОНГ) на 2-й день жизни, а также оценка влияния препарата семакс на последствия неонатальной гипоксии. Представленная работа проводилась на новорожденных крысах обоего пола. Каждый выводок делили на 3 группы. Две трети крысят каждого выводка на 2-й день жизни подвергались ОНГ (8% O₂ в течение 2 ч, t=37° C). В последующие две недели половина крысят, перенесших гипоксию, ежедневно получала интраназальные (и/н) инъекции семакса, а остальные – и/н-инъекции растворителя. Одна треть выводка не подвергалась гипоксии и получала и/н-инъекции растворителя. Измерение уровня BDNF проводили стандартным методом ELISA в гиппокампе и гипоталамусе крыс в возрасте 1 или 2 месяцев. Было показано, что у крыс, перенесших ОНГ, в возрасте 1 месяц наблюдается достоверное увеличение содержания BDNF в гипоталамусе, а в возрасте 2 месяцев – возрастание уровня нейротрофического фактора в гиппокампе. Хроническое интраназальное введение семакса крысам, подвергавшимся неонатальной гипоксии, приближает содержание BDNF в соответствующих структурах мозга к контрольным значениям.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-01913).

*Суханова Юлия Алексеевна
Биологический факультет
МГУ им. М.В. Ломоносова
119234 Москва, Ленинские годы, 1/12
E-mail: suhanova_julia@hotmail.com*

РОЛЬ БЕЛКОВ РАННЕГО ОТВЕТА В ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ ИНДУКЦИИ ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗЫ МОЗГА

Е. В. Сухарева, Т. С. Калинина, Д. А. Ланшаков,
В. В. Булыгина, Н. Н. Дыгало

*Институт цитологии и генетики СО РАН
Новосибирск*

Норадренергическая система мозга взрослых животных модифицируется стрессорными воздействиями в раннем онтогенезе. Введение гормонов стресса (глюкокортикоидов) вызывает долговременное изменение в активности ключевого фермента синтеза норадреналина – тирозингидроксилазы (ТГ). Экспрессия гена ТГ в стволе мозга 20–21-дневных плодов крыс, но не 8-дневных животных, повышается в течение 6–72 часов после введения глюкокортикоидов. Гормональная индукция гена фермента сопровождается ростом активности ТГ и содержания медиатора в мозге плодов. Вместе с тем, промотор гена ТГ не содержит гормон-зависимых элементов. Вовлечение неканонического механизма действия глюкокортикоидов, согласно которому гормоны регулируют экспрессию генов в результате белок-белковых взаимодействий с другими транскрипционными факторами, такими как белки AP-1-комплекса, может лежать в основе программирующего действия глюкокортикоидов и обнаруженной зависимости гормональной индукции от возраста животных. В этом случае, экспрессия генов будет расти при взаимодействии рецепторов гормона с AP-1-комплексом, образованным гомодимерами белков Jun/Jun, и снижаться при его образовании гетеродимерами Jun/Fos. Ген ТГ имеет два AP-1 элемента в промоторе. Определение уровней нативной экспрессии генов семейств Jun (c-jun, junB, junD) и Fos (c-fos, fosB) выявило более чем 5–20-кратное превышение соотношения транскриптов Jun над Fos в мозге 20–21-дневных плодов по сравнению с 8-дневными крысятами. Именно такое соотношение экспрессии белков AP-1-комплекса способно обеспечить гормональную индукцию гена ТГ в мозге плодов и объяснить ее отсутствие в мозге 8-дневных животных. В мозге 3-дневных крысят выявлено аналогичное мозгу плодов соотношение транскриптов Jun/Fos и установлена индукция гена и белка ТГ в стволе их головного мозга к 6-му часу после введения дексаметазона. Таким образом, способность глюкокортикоидов индуцировать ТГ в раннем онтогенезе коррелирует с преобладанием экспрессии белков Jun над Fos, что подтверждает участие неканонического механизма действия гормонов в регуляции транскрипции гена фермента, необходимое для программирования активности медиаторной системы мозга.

Работа поддержана грантами МК-1207.2014.4, РФФИ 13-04-01104, 14-04-31314.

*Сухарева Екатерина Викторовна
Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10
E-mail: evsukhareva@mail.ru*

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА ИНСУЛИНРЕЦЕПТОРНОГО СУБСТРАТА 2
В ГИПОТАЛАМУСЕ И ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦАХ САМЦОВ КРЫС
С МЯГКОЙ МОДЕЛЬЮ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДИАБЕТА

И. Б. Сухов, В. Н. Шпилов, О. В. Чистякова, А. М. Доильницын, А. О. Шпаков

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

В настоящее время накоплено большое количество данных о нарушении функциональной активности инсулинового сигнального пути мозга в условиях сахарного диабета 1-го типа (СД1). Одним из ключевых компонентов этого пути является инсулинрецепторный субстрат 2 (ИРС2), который осуществляет передачу сигнала от активированного гормоном инсулинового рецептора к фосфатидилинозитол-3-киназе и другим инсулин-зависимым сигнальным каскадам. Получены многочисленные свидетельства, что нарушение экспрессии и специфической активности ИРС2 приводит к развитию нейродегенеративных процессов. Однако сведения об экспрессии ИРС2 в тканях мозга в условиях СД1 крайне немногочисленны и относятся только к краткосрочной модели острого СД1 на крысах, вызываемой высокими дозами стрептозотоцина. Нами изучена экспрессия гена ИРС2 в обонятельных луковицах и гипоталамусе самцов крыс с пролонгированной (6 месяцев) моделью мягкого СД1 и влияния на нее длительного (105 дней) интраназального введения инсулина (ИИ). Модели СД1 вызывали у животных в возрасте полугода (1.5-СД1) или пяти месяцев (5-СД1), с помощью трех последовательных инъекций стрептозотоцина (30 мг/кг в 1-, 10- и 75-й дни эксперимента). Лечение ИИ начинали с 70-го дня эксперимента в суточной дозе 0,48 IU на крысу. Уровень экспрессии гена ИРС2 определяли с помощью метода ПЦР сопряженной с обратной транскрипцией. Показано, что экспрессия ИРС2 в обонятельных луковицах крыс с обеими моделями мягкого СД1 существенно не менялась в сравнении с контрольными животными, но лечение животных ИИ приводило к снижению этого показателя на 21–41% при СД1 и на 54–58% в контроле. Мы предполагаем, что это связано с компенсаторной реакцией инсулиновой системы в обонятельных луковицах крыс на интраназально вводимый гормон. В гипоталамусе диабетических крыс группы 1.5-СД1 наблюдали снижение экспрессии ИРС2 на 42%, в то время как у животных группы 5-СД1 изменений этого показателя выявлено не было. Лечение ИИ не оказывало влияния на экспрессию ИРС2 в гипоталамусе контрольных животных, но в значительной степени повышало ее у диабетических крыс – на 66% в группе 1.5-СД1 и на 159% в группе 5-СД1, причем в последнем случае экспрессия ИРС2 была достоверно выше в контроле. Это свидетельствует о стимулирующем влиянии ИИ на функциональное состояние инсулиновой сигнальной системы в гипоталамусе в условиях мягкого СД1, и может быть одной из молекулярных причин улучшения когнитивных функций при лечении диабетических животных с помощью ИИ, обнаруженных ранее нами и другими авторами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-00434).

*Сухов Иван Борисович
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: sukhov.ivan@gmail.com*

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ПАМЯТИ У КРЫС
С ОЖИРЕНИЕМ И НАРУШЕННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТЬЮ К ГЛЮКОЗЕ
И ВЛИЯНИЕ НА НЕЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ
ИНТРАНАЗАЛЬНЫМ ИНСУЛИНОМ

И. Б. Сухов, В. Н. Шипилов, О. В. Чистякова, А. М. Трост,
А. М. Доильницын, А. О. Шпаков

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

Ожирение и метаболический синдром являются комплексными метаболическими расстройствами, которые сопровождаются изменением функциональной активности нейромедиаторных систем мозга, в том числе инсулиновой сигнальной системы, вовлеченных в регуляцию когнитивных функций. Цель работы состояла в исследовании пространственной памяти самцов крыс с ожирением и нарушенной толерантностью к глюкозе, которые вызывались жировой диетой (4 месяца), и влияния на эти показатели длительной обработки (105 дней в суточной дозе 0.48 IU/крысу) животных инсулином при интраназальном введении. Пространственную память изучали с помощью модифицированного водного теста Морриса (ВТМ). Эксперимент состоял из предварительного обучения (1 день, 4 попытки), последовательной оценки процессов пространственного обучения (первая серия, 5 дней по 4 попытки) и переучивания со сменой положения платформы (вторая серия, 5 дней по 4 попытки) с перерывом между сериями 72 часа. Показано, что эффективность обучения (в первой серии) и переучивания (во второй серии) в ВТМ у крыс с ожирением и нарушенной толерантностью к глюкозе статистически значимо не отличалась от таковой у контрольных крыс. Также не было выявлено заметного влияния на эти показатели длительного интраназального введения инсулина. Таким образом, самцы крыс с ожирением и нарушенной толерантностью к глюкозе по таким параметрам пространственной памяти, как эффективность обучения и переобучения, не отличались от здоровых животных. Это, как мы полагаем, связано с отсутствием у крыс с ожирением выраженной инсулиновой резистентности, характерной для сахарного диабета 2-го типа, тем более, что инсулин мозга и регулируемые им в ЦНС сигнальные каскады играют ключевую роль в регуляции когнитивных функций. Ранее нами было показано, что в условиях отчетливого снижения чувствительности тканей к инсулину в условиях неонатальной модели сахарного диабета 2-го типа наблюдается снижение уровня пространственной памяти, который в значительной степени восстанавливался при длительном лечении диабетических крыс интраназальным введением инсулина.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-00434).

*Сухов Иван Борисович
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: sukhov.ivan@gmail.com*

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ МОЗГА НА НЕГАЗООБМЕННЫЕ ФУНКЦИИ ЛЕГКИХ

М. Р. Тимофеева, С. А. Лукина

Ижевская государственная медицинская академия

Болезнь Паркинсона, связанная с дегенерацией дофаминсинтезирующих нейронов черной субстанции мозга, сопровождается нарушением дофаминергической нейротрансмиссии и медиаторным дисбалансом. Клиническая картина паркинсонизма характеризуется двигательными и вегетативными расстройствами, проявляющимися, в том числе, и изменением режима вентиляции легких (Леви О.С. и др. 2012). Целью исследования явилось изучение метаболизма и фракционного состава липидов сурфактанта, кровенаполнения, водного баланса и гемостазконтролирующей функции легких при моделировании нейродегенерации черной субстанции мозга. Опыты выполнены на крысах-самцах с односторонним стереотаксическим введением нейротоксина 6-гидроксидофамина (6 мкг, n=9) в компактную часть черной субстанции (Худоерков Р.М. и др. 2012; Grealish S et al., 2010). Через месяц в бронхо-альвеолярных смывах наблюдалось уменьшение содержания общих фосфолипидов и холестерина ($p<0,05$) в составе сурфактанта. При анализе спектра фосфолипидов установлено понижение их основной поверхностно-активной фракции – фосфатидилхолина на 40% и увеличение на 19% лизофосфатидилхолина, что сопровождалось нарушением биофизических характеристик легочного сурфактанта и снижением индекса стабильности альвеол ($p<0,05$). Кровенаполнение легких повысилось ($p<0,05$). Отмечалось ухудшение механизмов неспецифической резистентности легких, о чем свидетельствовало уменьшение числа альвеолярных макрофагов и их способности к фагоцитозу. В системе гемостаза наблюдалось повышение коагуляционного потенциала крови с явлениями гиперкоагуляции в артериальном секторе на фоне уменьшения времени фибринолиза в системном и органном кровотоке. Таким образом, проявлением нейропатологического синдрома в условиях нейродегенерации черной субстанции стало развитие дизрегуляторной пневмопатии, характеризующейся дисбалансом липидного состава сурфактанта и снижением его поверхностной активности, нарушением механизмов неспецифической резистентности легких и их гемостатической функции.

*Тимофеева Марина Рудольфовна
Ижевская государственная медицинская академия
426034 Ижевск, ул. Коммунаров, 281
E-mail: martim18@yandex.ru*

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНО-МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ НОРМО- И ГИПОКСИИ СРЕДСТВАМИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Т. Е. Тимошенко¹, М. М. Халисов^{1,2}, А. В. Анкудинов^{2,3}

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

²*Научно исследовательский университет ИТМО*

³*Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН
Санкт-Петербург*

Механизм регуляции клеточного объема является важной составляющей тканевого гомеостаза. Согласно современным представлениям он тесным образом связан со стресс-активируемыми неселективными катионными каналами, которые активируются при изменении локального напряжения в поверхностном билипидном слое вокруг канала /Numata et al., 2007; Sachs F, 2010/. Локальный стресс бислоя может быть вызван разными факторами: изменениями осмотического давления, недостатком кислорода; конформационными перестройками белков клеточной мембраны и цитоскелета. Местные реакции клеточных мембран на механический стимул идут во всех живых клетках с поглощением или освобождением воды. Как следствие, можно ожидать изменений морфологии и вязко-упругих свойств клетки, детектирование которых, в свою очередь, дает возможности для контроля реакций. Представленная работа фокусировалась на развитие целостной диагностики методами атомно-силовой микроскопии (АСМ) геометрических и механических характеристик наиболее деформируемых клеток организма – эритроцитов в условиях, максимально приближенных к физиологическим (в жидкости при температуре 37° С, без фиксации). В частности, измерялись и анализировались объем, форма и локальный модуль Юнга контрольных эритроцитов и клеток, испытавших гипоксию, а также высушенных клеток. Опыты проводили на эритроцитах крыс, выделенных из артериальной крови и помещенных в физиологический раствор на фосфатном буфере. Подложкой служили чашки Петри, обработанные полилизинном (Sigma). В наших экспериментах живые эритроциты крысы могли реагировать на измерения обратимой и необратимой деформацией, в зависимости от таких параметров работы АСМ, как характерная сила взаимодействия, радиус закругления зонда, и суммарное время взаимодействия с клеткой. Мы выявили и обсуждаем диапазон оптимальных значений этих параметров, позволяющий тактильные исследования живых эритроцитов с сохранением их целостности. Такие щадящие АСМ-исследования выявляли при измерениях в центральной зоне живых эритроцитов значения модуля Юнга на уровне 14+/-10 кПа, что хорошо согласуется с литературными данными /Kuznetsova et al., 2007/. Кроме того, получены свидетельства о сильной неоднородности механических характеристик центральной области и периферии эритроцитов. У контрольных образцов амплитуды сигналов силы адгезии зонд-клетка, деформации и диссипации по площади эритроцитов на периферии больше, чем в центре, а после гипоксии – наоборот. Возможно, это связано со сменой соотношения работающих катионных каналов. Для уточнения этого результата ведутся дальнейшие исследования.

*Тимошенко Татьяна Емельяновна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: tet@infran.ru*

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕАКЦИЙ МОЗГА
НА ДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ФАКТОРОВ
В ПЕРИОД ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Е. И. Тюлькова, Л. А. Ватаева

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

Поражение головного мозга вследствие перенесенной пренатальной гипоксии–ишемии является в настоящее время одной из основных причин смерти и тяжелых неврологических нарушений у детей, не только в период новорожденности и в первые месяцы жизни, но и в более поздние сроки их развития. Среди факторов риска, связанных с нарушением развития плода в настоящее время особое внимание уделяется также применению во время беременности глюкокортикоидов. При оценке негативных последствий действия неблагоприятных факторов, которые могут нарушить развитие ребенка, необходимо учитывать, что в период беременности гипоксия и глюкокортикоиды опосредуют свое влияние на плод через организм матери и плаценту. В условиях действия указанных неблагоприятных факторов запускается целый каскад эффектов, включающих выброс большого количества стрессовых гормонов в кровь матери и структурно-функциональные изменения, в материнской и фетальной частях плаценты, что обуславливает сложность выявления механизмов вызванных ими расстройств.

С применением биохимических, морфологических и иммуноцитохимических методов проведен анализ структурно-функциональных изменений, развивающихся в мозге крыс после воздействия тяжелой гипобарической гипоксии (подъем на 11 000 м на 3 часа) или введения синтетического гормона дексаметазона на 14–16- и 17–19-е сутки пренатального периода развития. Исследовали влияние пренатального воздействия гипоксии и дексаметазона на уровень апоптоза клеток мозга, на стрессореактивность ГГАС и на активность внутриклеточных регуляторных систем, в частности, кальциевой и фосфоинозитидной, которые, как известно, являются ключевым звеном в регуляции многих сторон деятельности нервных клеток. Была проведена также оценка влияния указанных воздействий на уровень экспрессии инозиттрифосфатных (IP3) рецепторов, глюко- и минералокортикоидных рецепторов, и состояние прооксидантных и антиоксидантных систем различных структур мозга.

Последствия воздействия гипоксии и введения дексаметазона в пренатальном периоде, проявляющиеся в соответствующих изменениях функциональной активности сигнальных систем, различаются по степени выраженности и обнаруживаются уже на самых ранних стадиях постнатального развития и сохраняются во взрослом состоянии. Вызываемая действием гипоксии и дексаметазона модификация активности молекулярно-клеточных процессов сопровождается изменениями активности ГГАС, а также нарушениями формирования поведения и способности к обучению.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 13-04-00812).

*Тюлькова Екатерина Иосифовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: anoxia@pavlov.infran.ru*

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ
К МОДЕЛИРОВАНИЮ, ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ
НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

М. В. Угрюмов

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

К одним из самых тяжелых болезней мозга относятся нейродегенеративные заболевания (НДЗ), в первую очередь болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера. Они характеризуются: (а) полигенностью, (б) системным характером, (в) развитием в течение многих лет без проявления специфических драматических симптомов благодаря включению компенсаторных процессов, (г) появлением симптомов только после дегенерации большей части специфических нейронов – холинергических при болезни Альцгеймера и дофаминергических при болезни Паркинсона, а также истощением компенсаторных резервов мозга. Последнее обстоятельство объясняет низкую эффективность современного патогенетического лечения НДЗ и ставит задачу создания доклинической диагностики – задолго до появления специфических симптомов, и нейропротекторной терапии, направленной на остановку или хотя бы замедление гибели нейронов на ранней стадии нейродегенеративного процесса. Несмотря на то, что диагноз НДЗ на доклинической стадии можно поставить с помощью позитронно-эмиссионной томографии, этот редкий дорогостоящий метод не может быть использован при диспансеризации здорового населения. Учитывая системный характер НДЗ, на первом этапе разработки доклинической диагностики необходимо осуществить поиск периферических биомаркеров, в первую очередь в виде изменения состава плазмы крови и изменения экспрессии генов и фенотипа клеток крови. Это позволит при диспансеризации здорового населения создать группу риска, в которой окончательный диагноз можно будет поставить с помощью позитронно-эмиссионной томографии. Поиск периферических биомаркеров осуществляется у больных сразу же после появления симптомов, но до начала патогенетического лечения, а также на экспериментальных нейротоксических и трансгенных моделях НДЗ. В качестве потенциальных биомаркеров в плазме крови рассматриваются патологические белки (альфа-синуклеин, бета-амилоид и др.), моноамины и их метаболиты, гормоны, ростовые факторы, а в клетках крови – специфические гены и синтезы (моноамины, патологические белки, рецепторы и др.). Одновременно осуществляется углубленный анализ клеточных и молекулярных механизмов патогенеза НДЗ – нейродегенерации и пластичности мозга, и на основе полученных знаний осуществляется поиск потенциальных лекарственных веществ: (а) останавливающих или замедляющих гибель нейронов, (б) регулирующих механизмы пластичности мозга, (в) ингибирующих молекулярные триггеры появления специфических симптомов. Таким образом, использование современных нейрхимических подходов является основой для создания доклинической диагностики и превентивного лечения нейродегенеративных заболеваний.

*Угрюмов Михаил Вениаминович
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26
E-mail: mugrumov@mail.ru*

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ,
СОПРОВОЖДАЮЩИЕ ПЕРВЫЙ ЭПИЗОД ШИЗОФРЕНИИ

М. Г. Узбеков, Э. Ю. Мисионжник, Н. В. Смолина, С. Н. Шихов,
В. В. Калинина, Т. И. Сырейщикова, Г. Е. Добрецов,
А. Б. Шмуклер, И. Я. Гурович

Московский научно-исследовательский институт психиатрии МЗ РФ

Понимание патогенетических механизмов первого эпизода шизофрении все еще остаётся фрагментарным. **Цель.** Исследовать биохимические показатели, отражающие состояние нейромедиаторных моноаминов и белков, процессы перекисного окисления липидов и выраженность эндогенной интоксикации (эндотоксикоз) у больных первого эпизода шизофрении (ПЭШ), не получавших ранее антипсихотической терапии. **Методы.** Активность моноаминоксидазы (МАО) тромбоцитов и семикарбазид-чувствительной аминоксидазы (САО) сыворотки крови, концентрации средних молекул (СМ) в плазме и малонового диальдегида в сыворотке крови, функциональное состояние альбумина сыворотки исследовали у 26 больных ПЭШ, не получавших ранее антипсихотической терапии, и 15 здоровых добровольцев. **Результаты.** Тяжесть заболевания до начала антипсихотической терапии составляла $75,5 \pm 2,2$ баллов по шкале PANSS (шкала позитивных и негативных синдромов). У больных ПЭШ отмечалось достоверное повышение активности МАО (на 99%) и концентрации СМ (на 124%) и достоверное снижение активности САО (на 26%) по сравнению с контролем. Изменения других исследованных параметров были недостоверными. В соответствии со шкалой выраженности эндотоксикоза 12 больных характеризовались легкой, 12 пациентов – средней и 2 больных – тяжелой степенью эндотоксикоза. Регрессионный анализ показал достоверную связь МАО ($p < 0,01$), САО ($p < 0,01$) и СМ ($p < 0,02$) с клиническими показателями тяжести заболевания – PANSS. Факторный анализ выявил, что из этих трех показателей в состав первого фактора входят МАО и САО и показатель тяжести заболевания PANSS. МАО и PANSS связаны положительной корреляционной связью, а САО и PANSS – отрицательной связью. Т.е., с усилением тяжести заболевания можно ожидать увеличение показателя МАО и дальнейшего снижения величины показателя САО. Эти данные позволяют с достаточной степенью уверенности считать, что показатели МАО и САО являются специфическими компонентами патогенетических механизмов шизофрении. Методом стационарной флуоресцентной спектроскопии у больных ПЭШ не было выявлено изменений в функциональных свойствах альбумина сыворотки. Однако достоверные конформационные изменения молекулы альбумина у больных ПЭШ были обнаружены при помощи метода импульсной лазерной флуоресцентной спектроскопии с пико- и наносекундным разрешением. **Заключение.** Предполагается, что с патофизиологической точки зрения первый эпизод шизофрении является начальной стадией формирования стойкого патологически измененного биохимического статуса.

*Узбеков Марат Галеевич
Московский НИИ психиатрии МЗ РФ
107076 Москва, Потешная ул., 3, корп. 10
E-mail: uzbekovmg@mtu-net.ru*

РАЗЛИЧНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ВЕНТРАЛЬНОГО И ДОРСАЛЬНОГО ГИППОКАМПА К ДЕЙСТВИЮ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТИМУЛА

С. В. Фрейман, М. В. Онуфриев, Ю. В. Моисеева,
М. Ю. Степаничев, Н. В. Гуляева

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
Москва*

Ранее нами было показано, что селективная чувствительность гиппокампа (ГК) к разным типам стресса может быть связана с кортикостероид-зависимой индукцией провоспалительных цитокинов. Поскольку ГК неоднороден структурно и функционально, мы предположили, что провоспалительные эффекты стресса неодинаковы в дорсальном гиппокампе (ДГ), отвечающем главным образом за опеределенные формы обучения и памяти (в т.ч. пространственную), и в вентральном гиппокампе (ВГ), играющем важную роль в тревожных формах поведения. В связи с этим целью настоящей работы было исследование влияния интероцептивного стресса, индуцированного введением бактериального липополисахарида (ЛПС), на показатели нейровоспаления в ДГ и ВГ.

Самцам крыс линии Вистар однократно интраперитонеально вводили ЛПС в дозе 5 мг/кг, либо эквивалентный объем 0,9% NaCl. Животных декапитировали через 2, 4 и 24 ч после инъекции ЛПС, собирали кровь и выделяли отделы мозга для следующих исследований: содержания кортикостерона (ИФА); общей антиокислительной активности (сABTS), общей окислительной активности (с DMPD для сыворотки крови и с DCFH-DA для супернатантов мозга); экспрессии мРНК фактора некроза опухоли (ФНО- α) и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) методом ПЦР в реальном времени.

Уровень кортикостерона в крови сразу после инъекции повышался в крови, но уже через 4 часа снижался до контрольного уровня. Селективное накопление кортикостерона наблюдали в ВГ через 24 ч после инъекции. При этом в ВГ достоверно увеличивалась также экспрессия ФНО- α . Изменения в ДГ были менее выражены и происходили на более ранних этапах. Фронтальная кора, как правило, реагировала быстро на введение ЛПС. ВГ и ДГ по-разному отвечали на индукцию нейровоспаления провоспалительным стимулом, а соответствующая динамика во фронтальной коре в целом отличалась от ДГ и ВГ. Полученные результаты свидетельствуют о дифференциальном развитии индуцированных интероцептивным стрессом нейровоспалительных процессов в ДГ и ВГ.

Исследование поддержано грантом РФФИ (проект 13-04-00975) и Программой ОФФМ РАН.

*С. В. Фрейман
Лаборатория функциональной
биохимии нервной системы
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5а
E-mail: ferratino@gmail.com*

ИЗМЕНЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГАМК-ЕРГИЧЕСКИХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ
В ЯДРАХ ПНЕВМОТАКСИЧЕСКОГО ЦЕНТРА В РАННИЙ
ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
СЕРОТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС

Л. И. Хожай

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

Пневмотаксический центр включает структуры дорсолатеральной области моста – медиальное субъядро медиальной части парабрахиального комплекса и ядро Кёлликера-Фюзе и представляет собой формацию гетерогенных структурно-функциональных нейронных образований, функция которых связана с регуляцией активности нейронов дыхательного центра, генерации дыхательного ритма и респираторного паттерна. Целью данной работы явилось изучение распределения ГАМК-ергических нейронов в структурах пневмотаксического центра в норме и при недостаточности серотонинергической системы в пренатальный период развития у крыс. Для маркировки ГАМК-ергических интернейронов применяли антитела к одной из изоформ фермента глутамат-декарбоксилазы GAD-67. Показано, что в норме в ядре Кёлликера-Фюзе в ранние постнатальные сроки присутствует популяция ГАМК-ергических интернейронов, численность которой сохраняется к ювенильному возрасту. В медиальном субъядре парабрахиального комплекса на ранних постнатальных сроках присутствует незначительное число ГАМК-ергических интернейронов, которое к ювенильному возрасту удваивается. Выявлено, что ядра пневмотаксического центра являются мишенями обширных ГАМК-ергических афферентных проекций, о чем свидетельствует увеличивающаяся с возрастом плотность иммунореактивных терминальных отростков и терминальных синаптических бутонов в нейропиле. В ядре Кёлликера-Фюзе дефицит серотонина в пренатальный период на ранних постнатальных сроках приводит к снижению числа ГАМК-ергических интернейронов, численность которых к ювенильному возрасту повышается и достигает контрольного значения. Снижение уровня эндогенного серотонина в пренатальный период в медиальном субъядре парабрахиального комплекса приводит к более значительным изменениям: сокращению числа как ГАМК-ергических интернейронов, так и терминальных иммуноположительных отростков в нейропиле, снижению экспрессии GAD-67, уменьшению количества ГАМК-ергических синаптических бутонов и их скоплений. Таким образом, снижение уровня серотонина в пренатальный период приводит к нарушению тормозной афферентации ядер пневмотаксического центра и изменению локальных тормозных ГАМК-ергических сетей в его ядрах, что в результате может вызывать нарушение тормозных процессов в структурах центра. Получение такого рода данных необходимо для лучшего понимания причин возникновения тяжелых заболеваний в неонатальном и детском возрасте, связанных с нарушением респираторной функции.

*Хожай Людмила Ивановна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: astarta0505@mail.ru*

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОНИРОВАНИЯ
ФИБРОБЛАСТОВ И ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК
ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ МИКРОГРАВИТАЦИИ

М. О. Хотянович

Институт физиологии НАН Беларуси

Минск, Беларусь

В экспериментах на культуре клеток фибробластов человека FLv и крысиной глиомы крысы С6 изменяли на 60 *угл. град.* положение флаконов относительно горизонтальной плоскости. Поворот осуществляли через 48 часов после достижения конфлюэнтности в 70%. Сопоставляли результаты наблюдений пролиферативной активности клеток во флаконах (4 флакона), два из которых на протяжении всего эксперимента (24 часа) находились в горизонтальном положении, других два располагали под углом 60 *град.* Через 24 часа продолжали эксперимент, осуществляя клонирование клеток, выращенных во флаконах. Клонирование проводили на среде F10 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки в чашках Петри диаметром 35 мм. Подсчитывали клоны в 5 чашках для каждой серии с использованием инвертированного микроскопа NY-2E (Zeiss Inc., Германия).

У клеток глиомы С6, находившихся в условиях экспериментальной микрогравитации до начала клонирования, эффективность клонирования составила 82,0%, а у клеток глиомы С6, находившихся на протяжении всего опыта в горизонтальном положении, – 94,3% ($p \leq 0,05$). У клеток линии FLv с измененным вектором гравитации до начала клонирования, эффективность клонирования составила 66,5%, а у клеток, располагавшихся в горизонтальном положении в течение всего эксперимента, – 64,5%. Колонии клеток FLv, которые до начала клонирования располагались во флаконах под углом 60 *град.*, отличались атипично большими размерами и формой в сравнении с теми, которые все время культивировались во флаконах, расположенных в горизонтальной плоскости.

Итак, изменение направления действия равнодействующие силы отражается не только на эффективности клонирования, которая уменьшается у малигнизированных клеток, но и на фенотипических признаках нормальных клеток (фибробласты человека линии FLv).

На основании полученных данных можно заключить, что метод интраназального введения стволовых клеток является одним из вариантов манипуляций при репарации нейронных сетей с целью восстановления их функций.

Хотянович Маргарита Олеговна

Институт физиологии НАН Беларуси

Беларусь, 220072 Минск, ул. Академическая, 28

E-mail: Pochta_margo@mail.ru

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ
НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ
С ТРЕХПЕТЕЛЬНЫМИ БЕЛКАМИ ИЗ ЯДОВ ЗМЕЙ И МОЗГА
МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В. И. Цетлин

*Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Москва*

Трехпетельную организацию имеют не только α -нейротоксины (α НТ) змей, блокирующие никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАХР), но и ряд белков семейства L α 6, также взаимодействующих с нАХР. Такие α НТ, как α -бунгаротоксин, 40 лет назад помогли получить в индивидуальном виде нАХР – им оказался нАХР скага *Torpedo*, подобный мышечным нАХР. Позднее α -бунгаротоксин позволил обнаружить в мозге нейрональный α 7 нАХР, а затем и выделить из улитки ацетилхолин-связывающий белок (АХБ) – прекрасную структурную модель лиганд-связывающего домена нАХР. В недавних протеомных исследованиях были открыты новые типы α НТ, например, димерный α -кобратоксин (дКТ), в котором мономеры соединены двумя межмолекулярными дисульфидами. В дКТ частично сохранилось блокирование мышечного и α 7 нАХР, но появилась и способность взаимодействовать с α 3 β 2 нАХР; рентгеноструктурный анализ установил положение дисульфидов и выявил необычную упаковку дКТ (Osipov et al., J.Biol.Chem. 2008, 2012). В качестве моста между α НТ и L α 6-белками могут рассматриваться «слабые или необычные» нейротоксины: у них и в L α 6-белках дополнительный дисульфид находится не в петле II (как в α -бунгаротоксине), а в петле I. Трехпетельный белок Lynx1 из мозга мыши или человека имеет GPI якорь, которым он прикреплен к мембране вблизи нАХР. Как таковой этот белок недоступен и вся информация о его модулировании активности нАХР собрана с использованием суперэкспрессии или нокаута соответствующего гена. В нашем Институте была получена лишенная GPI водорастворимая форма белка (ws-Lynx1) и с использованием методов радиолигандного анализа и электрофизиологии установлено, что с АХБ и мышечным нАХР взаимодействие идет в классическом участке связывания агонистов и конкурентных антагонистов, а с нейрональными нАХР – вне его (Lyukmanova et al., J.Biol.Chem, 2011). Микромольное сродство ws-Lynx1 к этим мишеням и легкая отмываемость, в отличие от наномольного и практической необратимости связывания для α НТ, объясняют принципиальные отличия в эффектах этих белков. На серии мутантов ws-Lynx1 получена первая информация о поверхностях взаимодействия (Lyukmanova et al., J.Biol.Chem, 2013).

*Цетлин Виктор Ионович
Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10
E-mail: vits@mx.ibch.ru*

РОЛЬ ERK1/2-КИНАЗ В ФОРМИРОВАНИИ ПОВЫШЕННОЙ
СУДОРОЖНОЙ ГОТОВНОСТИ И В РЕАЛИЗАЦИИ СУДОРОЖНЫХ
ПРИПАДКОВ У КРЫС ЛИНИИ КМ

Е. В. Черниговская

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

Исследование посвящено изучению роли ERK1/2-киназ в формировании эпилептиформной судорожной активности у крыс линии Крушинского–Молодкиной (КМ). Проведено сравнение базального уровня активности ERK1/2-киназ, экспрессии глутамата и его везикулярного транспортера VGLUT2, ферментов синтеза ГАМК, а также белков SNARE-комплекса, ответственных за экзоцитоз нейротрансммиттеров, в гиппокампе и в височной коре у «наивных» и эпилептизированных крыс линии КМ в сравнении с крысами линии Вистар. Были выявлены межлинейные различия в уровне экспрессии и активности ERK1/2-киназ и ряда исследованных белков у крыс линий КМ в сравнении с крысами линии Вистар. Показанные различия схожи у «наивных» и эпилептизированных крыс линии КМ, что позволяет говорить о генетически детерминированном характере выявленных нарушений.

Проведены эксперименты на крысах линии КМ, которых подвергали действию звукового сигнала, что приводило к возникновению судорожных припадков. Активация ERK1/2-киназ на ранних стадиях судорожного припадков у крыс линии КМ сопровождается усилением экспрессии VGLUT2 и NR2B субъединицы NMDA-рецепторов, а также белков экзоцитоза – SNAP25, VAMP2 и синапсина1. Таким образом, активация ERK1/2-киназ на ранних стадиях судорожного припадков, указывает на их участие в регуляции экспрессии белков, отвечающих за выведение глутамата и за регуляцию экспрессии NR2B. Инактивация ERK1/2-киназ с помощью селективного блокатора SL-327 приводила к отмене судорожных припадков у 70% крыс, и при этом наблюдалось снижение активности синапсина1 и содержания VAMP2 и увеличение количества SNAP25. Уменьшение активности синапсина1 сопровождалось накоплением в гиппокампе VGLUT2. Полученные данные позволяют предположить, что противосудорожный эффект блокатора ERK1/2-киназ связан со снижением интенсивности экзоцитоза глутамата. Показанная зависимость уровня экспрессии изученных белков от активности ERK1/2-киназ, свидетельствуют о важной роли ERK1/2 в формировании повышенной судорожной готовности и в реализации судорожных припадков у крыс линии КМ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 11-04-00648).

*Черниговская Елена Валериевна
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: chern755@mail.ru*

ПАТТЕРН ЭКСПРЕССИИ АНТИАПОПТОТИЧЕСКОГО БЕЛКА Bcl-2
В НЕОКОРТЕКСЕ И ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ ПРЕДЪЯВЛЕНИИ
РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

А. В. Чурилова, Т. С. Глущенко, М. О. Самойлов

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

Bcl-2 принадлежит к семейству белков-регуляторов апоптоза и играет важную роль в нейропротекции при действии экстремальных факторов. Тяжелая гипобарическая гипоксия – одна из моделей повреждающих воздействий, вызывает структурные и функциональные нарушения нейронов чувствительных образований мозга (неокортекса и гиппокампа). Вместе с тем, воздействие умеренной гипобарической гипоксией (УГГ) способно активировать эндогенные защитные механизмы и индуцировать толерантность нейронов мозга к последующим повреждающим воздействиям. Нейропротективный эффект прекодиционирующих воздействий зависит от ряда параметров, в частности, кратности гипоксических воздействий. В настоящей работе в различных сериях экспериментов оценивали особенности влияния умеренной и тяжелой гипобарической гипоксии, а также их сочетанного действия на характер экспрессии Bcl-2 в нейронах неокортекса и вентрального гиппокампа (область CA3/CA4). Тяжелая гипобарическая гипоксия (ТГ) приводит к подавлению экспрессии Bcl-2 в неокортексе и не изменяет ее в гиппокампе. Паттерн экспрессии Bcl-2 после ТГ у однократно прекодиционированных (ПК) крыс схож с паттерном экспрессии Bcl-2 у не-ПК крыс. В отличие от однократного ПК, многократные сеансы УГГ существенно ап-регулируют уровень Bcl-2 в неокортексе и гиппокампе крыс после ТГ. Очевидно, высокий уровень Bcl-2, наблюдаемый у многократно-ПК крыс, играет важную роль в предотвращении гибели нейронов после ТГ. При исследовании влияния УГГ без последующего предъявления ТГ обнаружено, что однократный сеанс УГГ приводит к снижению интенсивности иммунореактивности Bcl-2 в неокортексе и не влияет на экспрессию Bcl-2 в гиппокампе. Напротив, многократные сеансы УГГ приводят к усилению экспрессии Bcl-2 в обеих исследованных областях. Следовательно, в отличие от однократного, многократные предъявления УГГ способны вызвать достаточно сильную экспрессию Bcl-2, что способствует выживанию нейронов при предъявлении последующей ТГ.

*Чурилова Анна Викторовна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: annch05@mail.ru*

ФИЗИОЛОГИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ СТРУКТУР РАСШИРЕННОЙ
МИНДАЛИНЫ, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ ЦЕНТРАЛЬНЫХ
МЕХАНИЗМОВ СТРЕССА И ПОДКРЕПЛЕНИЯ

П. Д. Шабанов, А.А. Лебедев, Р. О. Роик

*Научно-исследовательский институт
экспериментальной медицины СЗО РАМН*

Санкт-Петербург

Современные представления о центральных механизмах стресса базируются на концепции Г. Селье, согласно которой запускающую роль в стрессе играют гипоталамические структуры мозга и гормоны передней доли гипофиза. Ведущее значение в этом отводят кортикотропин-рилизинг гормону (КРГ), или кортиколиберину. Однако в последние 10–15 лет в мозгу обнаружена внегипоталамическая локализация рецепторов КРГ, причем число экстрагипоталамических рецепторов КРГ явно превышает таковое в гипоталамусе. Именно этой системе, локализованной в составе структур так называемой расширенной миндалины (*extended amygdala*), в настоящее время отводят определяющее значение в побудительных механизмах стресса. Система расширенной миндалины локализуется в пределах базального переднего мозга, включает центральное и медиальное ядра миндалины, ядро ложа конечной полоски, медиальную часть прилежащего ядра (*shell*) и сублентиккулярный отдел безымянной субстанции, обеспечивая эмоциональные реакции человека и животных и эмоционально-мотивационные эффекты разных наркогенов. Представления о механизмах подкрепляющего действия наркогенов (опиоидов и неопиоидов) основываются на существовании в головном мозге системы специализированных эмоциогенных структур, прежде всего, структуры медиального переднемозгового пучка, включая гипоталамус и структуры расширенной миндалины, которые опосредуют их действие на эффекторные органы.

Для изучения эмоциональных реакций животных были выбраны крысы-самцы Вистар, которым вживляли биполярные электроды в латеральный гипоталамус для изучения реакции самостимуляции в камере Скиннера (безусловного подкрепления) и микроканюли в центральное ядро миндалины или ядро ложа конечной полоски (система расширенной миндалины) для введения фармакологических веществ (1 мкг в 1 мкл на инъекцию). Фармакологический анализ нейромедиаторных механизмов центрального ядра миндалины и ядра ложа конечной полоски для подкрепляющих эффектов ряда психоактивных веществ (опиатов, опиоидов, психостимуляторов) на самостимуляцию латерального гипоталамуса у крыс показал, что блокада рецепторов КРГ в исследованных структурах мозга в большей степени, чем воздействие на другие нейромедиаторные системы (дофамина, ГАМК) или общую возбудимость нервной ткани (лидокаин), снижает эмоционально позитивные реакции, вызываемые разными наркогенами. При этом устраняются эффекты опиатов (морфин, фентанил) и опиоидов (лей-энкефалин), но мало меняются подкрепляющие эффекты психостимуляторов (амфетамин) и барбитуратов (этамил-натрий). Сделан вывод, что устранение модулирующих влияний со стороны миндалины на гипоталамус блокирует подкрепляющие свойства опиатов (фентанил) и опиоидов (лей-энкефалин). Ядра ложа конечной полоски также оказывают

управляющее влияние на гипоталамус посредством ГАМК- и дофаминергических механизмов. ГАМК осуществляет отрицательное (тормозящее) действие. Через D₁-рецепторы дофамина реализуется прямое положительное (активирующее) действие на латеральный гипоталамус, а D₂-рецепторы дофамина ядра ложа конечной полоски ограничивают положительные эффекты наркогенов. Во второй серии исследований выясняли значение системы дофамина, ГАМК, опиоидов и входящих натриевых каналов нейронов прилежащего ядра для подкрепляющих эффектов ряда психоактивных веществ (психостимуляторов, опиатов, опиоидов) на условную реакцию предпочтения места (УРПМ; условно-рефлекторное подкрепление) у крыс. Крысам самцам Вистар вживляли микроканиюли в прилежащее ядро для введения фармакологических веществ (1 мкг в 1 мкл на инъекцию). У крыс вырабатывали УРПМ одного из наркогенов в течение 8 дней. Для анализа использовали блокатор входящих ионных токов Na⁺ лидокаин, антагонисты ГАМК_A-рецепторов бичукуллин, D₁-рецепторов дофамина SCH23390, D₂-рецепторов дофамина сульпирид и опиоидных рецепторов налоксон, которые вводили внутривентрикулярно в прилежащее ядро. Большинство исследованных блокаторов уменьшало или устраняло подкрепляющие эффекты фенамина. Активация подкрепления фентанилом снималась бичукуллином, лидокаином и налоксоном, но не антагонистами рецепторов дофамина (SCH23390 и сульпирид). Практически ни один из исследованных фармакологических блокаторов не влиял на УРПМ, активируемую этаминаломнатрия, за исключением бичукуллина, ее снижавшую. Наконец, эффекты лей-энкефалина устранялись налоксоном и SCH23390, но усиливались бичукуллином. Сульпирид и лидокаин в этом случае не влияли на УРПМ лей-энкефалина. Сделан вывод, что в прилежащем ядре сопрягаются разные управляющие механизмы положительного условнорефлекторного подкрепления (ГАМК-, дофамин- и опиоидергические).

*П. Д. Шабанов
НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН
197376 Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12
E-mail: pdshabanov@mail.ru*

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА Src-КИНАЗЫ НА ЭФФЕКТ
ТРАНСДУКТОР-ОПОСРЕДОВАННОЙ МОДУЛЯЦИИ ВОЗБУДИМОСТИ
МЕМБРАНЫ НОЦИЦЕПТИВНОГО НЕЙРОНА

Т. Н. Шелых, В. Б. Плахова, И. В. Рогачевский

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

Известно, что трансдукторная функция Na^+, K^+ -АТФазы может активироваться низкими концентрациями кардиотонического стероида убаина. При исследовании кардиомиоцитов было показано, что в результате связывания убаина с Na^+, K^+ -АТФазой происходит ее взаимодействие с Src-киназой, сопровождающееся активацией тирозинкиназ, повышается уровень активных форм кислорода, играющих в клетке роль вторичных мессенджеров, активируется MAP-киназный каскад. Известно, что убаин оказывает похожее влияние на гладкомышечные клетки сосудов и скелетные мышцы. Однако в настоящее время ясно, что в разных тканях убаин может вызывать совершенно разные эффекты. Таким образом, выявление и идентификация белков, непосредственно взаимодействующих с Na^+, K^+ -АТФазой в различных тканях при различных условиях, является очень важной задачей, позволяющей понять механизмы регуляции активности самого фермента, а также его роли в передаче внутриклеточного сигнала.

Ранее, при исследовании физиологической роли трансдукторной функции Na^+, K^+ -АТФазы, нами было показано, что взаимодействуя с Na^+, K^+ -АТФазой эндогенный убаин снижает потенциалочувствительность медленных натриевых каналов $\text{Na}_v1.8$, вызывая таким образом антиноцицептивный эффект. В представленной работе с помощью метода локальной фиксации потенциала («patch-clamp») было изучено влияние ингибитора Src-киназы PP2 на способность убаина модулировать натриевые каналы $\text{Na}_v1.8$. Часть исследований проводилась с использованием конфокального лазерного сканирующего микроскопа «LSM 710» (фирма Carl Zeiss, Германия) в Центре коллективного пользования «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что эффект снижения величины эффективного заряда активационной воротной системы каналов $\text{Na}_v1.8$, определяющей их потенциалочувствительность, обнаруженный ранее при воздействии низких концентраций убаина, устранялся при предварительном добавлении во внутриклеточный раствор ингибитора Src-киназы PP2 в концентрации 10 мкмоль/л. Эти данные впервые доказывают участие Src-киназы в передаче ноцицептивного сигнала на активационное воротное устройство медленных натриевых каналов $\text{Na}_v1.8$.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-00440).

*Шелых Татьяна Николаевна
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН
199034 Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6
E-mail: shelt76@mail.ru*

НОВЫЕ НЕЙРОНЫ И ПРОЦЕССЫ ПАМЯТИ У ВЗРОСЛЫХ ИНДИВИДУУМОВ

В. В. Шерстнев

*Научно-исследовательский институт
нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН
Москва*

Исследовали функциональное значение постнатального нейрогенеза в обеспечении мнестических процессов исходя из положений гипотезы о ключевой роли нейрогенеза в обеспечении процессов обучения и памяти у взрослых индивидуумов. Гипотеза предполагает, что обучение – есть формирование новой функциональной системы, включающей вновь образованные специализированные нейроны различных структур мозга и нервные клетки предсуществующих нейронных систем, сложившихся на принципах системогенеза (Шерстнев В.В, 2006). С помощью иммуногистохимического метода в гиппокампе, мозжечке и коре мозга определяли количество вновь образованных нервных и глиальных клеток 1-, 2- и 6-месячного возраста, а также старых нейронов и астроцитов, подверженных и не подверженных пластическим перестройкам (экспрессия *c-fos*) при формировании и упрочении долговременной пространственной памяти у взрослых крыс. Определяли также количество апоптотических новых и старых клеток. Обнаружены значимые различия внутри и межструктурного распределения меченых клеток у обученных и контрольных животных. Выявлена взаимосвязь количества новых и старых нейронов, экспрессирующих *c-fos* в различных отделах гиппокампа и коры мозга, с показателями формирования долговременной памяти. Документированы межрегиональные отличия в направленности, силе и количестве корреляций между показателями процессов пролиферации, дифференцировки и апоптотической гибели вновь образованных клеток при обучении и в контроле. Полученные результаты свидетельствуют, что вновь образованные разновозрастные нервные и глиальные клетки, локализованные в релевантных структурах зрелого мозга, избирательно и гетерохронно вовлекаются в обеспечение процессов долговременной пространственной памяти. В формировании нейронного обеспечения исследованного вида памяти участвуют предсуществующие нервные клетки, а также процессы нейроапоптоза. Экспериментальные факты рассматриваются как подтверждение предложенной гипотезы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-06-00077).

*Шерстнев Владимир Вячеславович
НИИ нормальной физиологии
им. П.К. Анохина РАМН
125009 Москва, ул. Моховая 11, стр. 4
E-mail: sherstnev@inbox.ru*

АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА МОЗГА В УСЛОВИЯХ САХАРНОГО ДИАБЕТА

А. О. Шпаков

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

Изменения функциональной активности гормональных систем мозга являются одной из первопричин развития осложнений со стороны ЦНС в условиях сахарного диабета 1-го типа (СД1), который характеризуется инсулиновым дефицитом и сильно выраженной гипергликемией, и сахарного диабета 2-го типа (СД2), для которого характерны инсулиновая резистентность, умеренная гипергликемия и дислипидемия. Внимание исследователей, как правило, приковано к нарушениям в инсулиновой сигнальной системе мозга, чьи функции в наибольшей степени меняются при СД1 вследствие недостаточности инсулина и при СД2 вследствие снижения чувствительности тканей мозга к этому гормону. Однако в последние годы накапливается все больше данных о важной роли изменений в аденилатциклазной сигнальной системе (АЦСС) и нижележащих цАМФ-зависимых сигнальных каскадах в этиологии и патогенезе диабетической энцефалопатии и других дисфункций ЦНС, возникающих в условиях диабетической патологии. При этом изменения в чувствительной к гормонам и нейромедиаторам АЦСС могут быть не только следствием СД, но и пусковым механизмом, который ведет к развитию инсулиновой резистентности и СД2. Нами и другими авторами получены убедительные доказательства в пользу того, что в условиях экспериментального СД1 и СД2 меняется чувствительность АЦСС к действию таких гормонов и нейромедиаторов, как дофамин, норадреналин, серотонин, соматостатин, меланоцитстимулирующий гормон, нейропептид Y, гипофизарный активирующий аденилатциклазу полипептид, релаксин, аденозин. Выявленные нарушения характеризуются рецепторной специфичностью. Так, например, в случае серотонина в значительной степени снижается функциональная активность серотониновых рецепторов 1-го типа, которые через *Gi*-белки ингибирующим способом сопряжены с аденилатциклазой (АЦ), в то время как передача серотонинового сигнала через серотониновые рецепторы 4-го, 6-го и 7-го типов, сопряженных с АЦ стимулирующим способом через посредство *Gs*-белков, меняется незначительно. Выраженность изменений в цАМФ-зависимых сигнальных каскадах мозга положительно коррелирует с продолжительностью и тяжестью СД, а сами эти изменения возникают на ранних этапах развития осложнений ЦНС и могут быть использованы для их ранней диагностики и мониторинга. Установление взаимосвязи между нарушениями в гормоночувствительной АЦСС мозга и развитием нейродегенеративных заболеваний в условиях СД открывает широкие перспективы для разработки новых стратегий, направленных на лечение и предупреждение этих заболеваний.

*Шпаков Александр Олегович
Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
E-mail: alex_shpakov@list.ru*

ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО ПАЛЬМИТАТОМ ПЕПТИДА,
СООТВЕТСТВУЮЩЕГО ПЕРВОЙ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ПЕТЛЕ
МЕЛАНКОРТИНОВОГО РЕЦЕПТОРА 4-го ТИПА, НА АКТИВНОСТЬ
АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ В МОЗГЕ КРЫС

Е.А. Шпакова*, К. В. Деркач, А. О. Шпаков

**Институт высокомолекулярных соединений РАН
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
Санкт-Петербург*

Меланокортиновые рецепторы (MR) 4-го типа вовлечены в контроль пищевого поведения, энергетического обмена, регуляцию когнитивных функций. Снижение активности этих рецепторов вызывает гиперфагию, ожирение и приводит к развитию метаболического синдрома, вследствие чего разработка селективных регуляторов MR 4-го типа является одной из актуальных задач современной нейроэндокринологии и медицины. Одним из перспективных подходов для создания таких регуляторов является синтез липофильных производных пептидов (пепдуцинов), соответствующих по первичной структуре цитоплазматическим участкам рецепторов серпантинного типа, ответственным за взаимодействие с гетеротримерными G-белками и передачу гормонального сигнала к внутриклеточным сигнальным каскадам. Нами был впервые синтезирован пептид *Palm-Val-Lys-Asn-Lys-Asn-Leu-His-Ser-Pro-(Nle)-Tyr-Phe-Phe*₆₂₋₇₄ (*palm-MR4-i1*), производный первой цитоплазматической петли MR4, который с N-конца был модифицирован остатком пальмитиновой кислоты, и изучено его влияние на активность фермента аденилатциклазы (АЦ) во фракциях плазматических мембран, выделенных из тканей мозга крыс. В концентрациях 10^{-6} – 10^{-3} М пептид *palm-MR4-i1* повышал базальную активность АЦ, причем его эффект был бифазным, достигая максимума в концентрации 10^{-5} М. В концентрации 10^{-4} М пептид снижал стимуляцию АЦ неселективным агонистом MR-меланоцитстимулирующим гормоном, селективным агонистом MR 4-го типа THIQ и низкоселективным агонистом MR 3-го типа – меланоцитстимулирующим гормоном (все в концентрации 10^{-7} М), на 29, 38 и 25%, что говорит о большей эффективности пептида *palm-MR4-i1* в отношении гомологичного ему MR 4-го типа. Полученные данные указывают на способность пептида *palm-MR4-i1* регулировать функциональную активность чувствительной к меланокортину аденилатциклазной сигнальной системы в мозге крыс, что может быть использовано для разработки на его основе регуляторов MR 4-го типа.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-00351).

*Шпакова Елена Александровна
Институт высокомолекулярных соединений РАН
199004 Санкт-Петербург, В. О. Большой пр., 31
E-mail: alex_shpakov@list.ru*

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ
ФЕРМЕНТОВ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПЕСЧАНОК МОНГОЛЬСКИХ
ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ
В РАЗЛИЧНЫЕ ПЕРИОДЫ РЕПЕРФУЗИИ

Н. С. Щербак, М. М. Галагудза, В. В. Томсон,
Е. Р. Баранцевич, Е. В. Шляхто

*Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова*

*Федеральный медицинский исследовательский
центр им. В.А. Алмазова*

Санкт-Петербург

Толерантность клеток головного мозга (ГМ) к повреждающему действию ишемии/реперфузии может быть достигнута при применении способов эндогенной нейропротекции, в частности, ишемического посткондиционирования (ИПостГМ). Механизмы ИПостГМ до сих пор остаются неизученными, также малоизучен метаболизм нейронов отдельных структур ГМ, обладающих различной чувствительностью к ишемии/реперфузии у видов животных с различным анатомическим строением сосудистой системы ГМ.

Цель исследования – изучить влияния ИПостГМ на изменение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в цитоплазме нейронов различных слоев коры ГМ в раннем и отдаленном реперфузионном периоде после глобальной ишемии у монгольских песчанок. Ишемию ГМ моделировали у монгольских песчанок (*Meriones unguiculatus*) путем окклюзии общих сонных артерий на 7 минут, с последующей реперфузией в течение 2 или 7 суток. ИПостГМ было представлено в виде трех эпизодов реперфузии–реокклюзии по 15 секунд.

Группы: 1) ложнооперированные животные с периодом наблюдения 2 суток (ЛО-2); 2) то же с наблюдением в течение 7 суток (ЛО-7); 3) ишемия ГМ + 2 суток реперфузии (И-2); 4) то же + 7 суток реперфузии (И-7); 5) И+ПостГМ-2; 6) И+ПостГМ-7. В цитоплазме сохранивших жизнеспособность нейронов слоев II, III и V ГМ (bregma $-1,7 \pm 0,2$ mm) выявляли активность СДГ и ЛДГ гистохимическим методом с последующей регистрацией оптической плотности на цитоспектрофотометре.

В ЛО-2 и ЛО-7 группах активность ЛДГ и СДГ в цитоплазме нейронов слоя V была ниже ($p < 0,01$) при сравнении с нейронами других слоев. Ко второму дню реперфузионного периода в цитоплазме жизнеспособных нейронов слоев II, III и V в группе И-2 наблюдалось повышение активности СДГ на 40, 23,3 и 22,2% соответственно ($p < 0,01$) и понижение активности ЛДГ на 21, 17,9 и 30% соответственно ($p < 0,05$) при сравнении с ЛО-2. К седьмым суткам реперфузии активность СДГ продолжала увеличиваться, а активность ЛДГ продолжала понижаться в сравнении с И-2 и ЛО-7 ($p < 0,05$). При применении ИПостГМ в слоях II, III и V отмечалось увеличение активности ЛДГ на 36,8, 43,5 и 37,5%, в сравнении

с И-2 ($p<0,05$) и на 15, 28,5 и 13,6% в сравнении с И-7 ($p<0,01$) и понижение активности СДГ на 19,4, 17,6% ($p<0,01$) и 5,5% ($p=0,14$), в сравнении с И-2 и на 21,4, 15 и 12,9% в сравнении с И-7 ($p<0,05$).

Применение ИПостГМ способствовало уменьшению степени активации СДГ, вызванной ишемией/реперфузией, и повышению активности ЛДГ. Можно предположить, что ишемические стимулы, выполненные после завершения тестовой 7-минутной ишемии, способствуют многократному «переключению» клеток с аэробного на анаэробный путь образования энергии, что и запускает механизмы адаптации к реперфузионному повреждению.

*Щербак Наталья Сергеевна
Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И.П. Павлова
197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2
E-mail: ShcherbakNS@yandex.ru*

ПЛЕЙОТРОПНЫЕ ПРОТЕАЗЫ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ МОЗГА:
КАСПАЗА-3 И КАТЕПСИН В

А. А. Яковлев

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
Москва*

Широкая субстратная специфичность протеаз мозга и неспецифичность субстратов по отношению к расщепляющим их ферментам являются основой плеiotропности протеаз и могут опосредовать формирование механизма локальной протеолитической регуляции функциональных/пластических изменений в головном мозге. На примере каспазы-3 и катепсина В продемонстрирована вовлеченность этих важнейших протеаз в различные феномены нейропластичности. Каспаза-3 мозга – плеiotропный фермент, опосредующий реализацию не только апоптотической программы, но и физиологических процессов, не сопровождающихся клеточной гибелью, включая дифференцировку клеток и долговременную потенциацию. Широкая субстратная специфичность протеаз является основой для перекрестной активности разных протеаз в отношении одного и того же субстрата. Например, показано, что катепсин В и протеасома могут расщеплять субстрат каспазы-3. По-видимому, этот феномен является частью регуляторных механизмов, основанных на ограниченном протеолизе функционально важных белков. Так, при снижении рН происходит переключение катепсина В на субстраты каспазы-3, при этом катепсин В секретируется из клеток мозга и, следовательно может расщеплять субстраты каспазы-3 во внеклеточном пространстве (например, синаптической щели). Ряд экспериментальных данных свидетельствует об участии секретируемого катепсина В в феномене прекодиционирования. Вовлеченность протеаз в различные процессы определяется не столько природой конкретного фермента, сколько природой субстрата, находящегося вблизи протеазы и подвергающегося ограниченному протеолизу. Это обеспечивает возможность локальной, практически точечной регуляции процессов в клетках мозга и внеклеточном матриксе, или, используя выражение Н.В. Тимофеева-Ресовского, то, что «в должном месте в должное время происходит должное».

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект 14-04-01858-а).

*Яковлев Александр Александрович
Лаборатория функциональной
биохимии нервной системы
Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии РАН
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5А
E-mail: al_yakovlev@rambler.ru*

Авторский указатель

Babusikova E. – 3, 4, 9
Bittšanský M. – 5, 8
Dabrowska-Bouta B. – 14
Demêmes D. – 119
Dobrota D. – 3, 4, 5, 8, 9
Evinova A. – 3
Fedorova Ya.B. – 10
Gamczyk M. – 6
Gavrilova S.I. – 10
Gruden M.A. – 7, 45
Hama-Murad A. – 84
Hnilicová P. – 5, 8
Jurecekova J. – 3, 9
Kopanchuk S. – 12
Kozlova D.I. – 10
Michalik J. – 9
Nalivaeva N.N. – 4, 10, 11, 13, 78
Plesneva S.A. – 10, 78
Rinken A. – 12
Salinska E. – 6, 14, 26
Sewell R.D.E. – 7
Sivák Š. – 3, 5, 8
Sivonova-Kmetova M. – 9
Struzynska L. – 14
Tõntson L. – 12
Turner A.J. – 4, 10, 13, 78
Zhuravin I.A. – 10, 30, 53, 59, 78
Ziembowicz A. – 6, 26
Ziemska E. – 14

А

Аврова Н.Ф. – 15, 65
Адресова Н. Г. – 99
Акулова В.К. – 16, 107
Алексеева О.С. – 53
Алиева Т.А. – 61
Адреев Н.Г. – 99
Андреева Л.А. – 51, 131
Андрианов В.В. – 84
Андропова И.А. – 17
Андропова М.А. – 17
Аниол В.А. – 18, 46
Анисимов В.Н. – 22
Анкудинов А.В. – 136

Арапов А.С. – 19
Арутюнян А.В. – 20, 70, 76, 113
Ахметшин М.О. – 38

Б

Баблюк Е.В. – 21
Бажанова Е.Д. – 22, 74
Базиян Е.В. – 112
Базян А.С. – 23
Баранова К.А. – 24
Баранцевич Е.Р. – 152
Батухтина Е.И. – 47
Бахтюков А.А. – 38
Бачева А.В. – 83
Баюнова Л.В. – 15
Белогуров А.А. – 82, 83
Беляева Е.А. – 25
Беляков А.В. – 26, 124
Белякова А.С. – 27
Бокша И.С. – 28
Бондарева В.М. – 49, 50
Бохан Н.А. – 47
Бульгина В.В. – 21, 132
Бунеева О.А. – 94
Бурбаева Г.Ш. – 28
Буткевич И.П. – 29, 97

В

Вайдо А.И. – 54
Васильев Д.С. – 30, 53
Ватаева Л.А. – 128, 137
Вениаминова Е.А. – 67
Веселкин Н.П. – 31
Ветлугина Т.П. – 47
Ветрилэ Л.А. – 47
Ветровой О.В. – 32, 33, 118
Виноградова Е.П. – 58
Власова Ю.А. – 15, 65
Волкова Е.В. – 34
Воробьева Е.А. – 28
Воробьева О.В. – 48
Воронков Д.Н. – 35
Воскресенская О.Г. – 27, 36

Г

Габаева М.М. – 112
Габибов А.Г. – 82, 83
Гагарская А.С. – 37
Гайнутдинов Х.Л. – 84
Галагудза М.М. – 152
Галкина О.В. – 38, 57, 65
Гамзин С.С. – 39, 80
Гармаза Ю.М. – 40
Гедзун В.Р. – 115
Германова Э.Л. – 89
Гехт А.Б. – 46, 106
Глазова М.В. – 41, 66
Глазова Н.Ю. – 95, 131
Глущенко Т.С. – 32, 63, 126, 145
Гнеденко О.В. – 94
Голубович В.П. – 27, 36, 115
Горбачева Е.Л. – 42
Гривенников И.А. – 51, 93
Григорьева О.М. – 39, 80
Гринкевич Л.Н. – 43, 48
Гришин Е.В. – 44
Грудень М.А. – 7, 45
Гужова И.В. – 55
Гузеев М.А. – 86
Гуляева Н.В. – 18, 46, 69, 106, 127, 140
Гурович И.Я. – 139

Д

Давыдова Т.В. – 47
Данилова А.Б. – 48
Денисов А.А. – 84
Деркач К.В. – 49, 50, 151
Добрецов Г.Е. – 139
Доильницын А.М. – 133, 134
Долгая Ю.Ф. – 68
Долотов О.В. – 51, 93
Дорофеева Н.А. – 52
Дубровская Н.М. – 53
Дубынин В.А. – 115
Дударёнок А.П. – 36
Дыгало Н.Н. – 132
Дюжикова Н.А. – 48, 54

Е

Екимова И.В. – 55, 87, 110
Елизаров А.Ю. – 56
Елохин В.А. – 56

Ещенко Н.Д. – 38, 57, 65

Ж

Жабко Е.П. – 60
Жарова О.А. – 50
Жуков Д.А. – 58
Журавин И.А. – 10, 30, 53, 59, 78

З

Зайцев А.В. – 60, 72, 91, 92
Залата О.А. – 61
Залозняя И.В. – 70, 76, 113
Захарова И.А. – 47
Захарова И.О. – 15
Зачепило Т.Г. – 54, 62
Згода В.Г. – 94
Зембович А. – 6, 26
Зенько М.Ю. – 63
Зинчук В.В. – 64
Зорина И.И. – 57, 65
Зосен Д.В. – 66
Зубарева О.Е. – 67
Зубрицкая Г.П. – 40

И

Иванов А.С. – 94
Иванова П.Н. – 68
Иванова-Дятлова А.Ю. – 18, 46
Ильинская А.П. – 36
Иноземцева Л.С. – 51, 93, 131
Июдин В.С. – 84

К

Каймовский И.Л. – 106
Калемениев С.В. – 67
Калинина В.В. – 139
Калинина Т.С. – 132
Каменский А.А. – 27, 36
Каминская А.Н. – 103
Канцерова Н.П. – 90
Карамян О.А. – 31
Квичанский А.А. – 69
Керкешко Г.О. – 70
Ким А.Р. – 71
Ким К.Х. – 60, 72, 91, 92
Кириллова О.А. – 77
Кирова Ю.И. – 89
Ковалев Г.И. – 73
Козина Е.А. – 71

Козина Л.С. – 20
Козлова Ю.О. – 22, 74
Козырев С.А. – 102
Колачева А.А. – 75
Комлева Ю.К. – 120
Кононихин А.С. – 83
Константинова Н.Н. – 112
Копылов А.Т. – 94
Кореневский А.В. – 20, 70, 76
Коротков А.А. – 77
Кочкина Е.Г. – 78
Кривенко А.Б. – 79
Кручинина А.Д. – 39, 80
Крылов Б.В. – 81
Кувачева Н.В. – 120
Кудрин В.С. – 95
Кудряева А.А. – 82, 83
Кудряшова И.В. – 46
Кузина Е.С. – 82, 83
Кульчицкий В.А. – 84
Курина А.Ю. – 85
Кутько А.Г. – 40

Л

Лаврентьева В.В. – 60, 72
Лазарева Н.А. – 46, 106, 127
Лазаревич Е. – 124
Ланшаков Д.А. – 132
Лапикова-Бригинская Т.Ю. – 118
Лапшина К.В. – 86, 87
Лебедев А.А. – 88, 146
Левина А.С. – 54
Левицкая Н.Г. – 95, 131
Либеранская О.М. – 105
Линькова Н.С. – 62
Лопатина Н.Г. – 54, 62
Лопатина О.Л. – 120
Лукина С.А. – 34, 135
Лукомская Н.Я. – 60, 72, 91
Лукьянова Л.Д. – 89
Лыжин А.А. – 69
Лысенко Л.А. – 90, 114

М

Магазаник Л.Г. – 60, 72, 91, 92
Максимович Н.Е. – 64
Малиновская Н.А. – 120
Малкин С.Л. – 92
Малышев А.В. – 115

Манченко Д.М. – 95, 131
Манухин Б.Н. – 101
Марков Д.Д. – 51, 93
Медведев А.Е. – 94
Медведева А.В. – 103
Мерчиева С.А. – 95
Мешалкина Д.А. – 55
Миеттинен М.Т. – 128
Милютин Ю.П. – 20, 70, 76, 113
Мингазов Э.Р. – 96
Мисионжник Э.Ю. – 139
Михайленко В.А. – 29, 97
Михрина А.Л. – 98
Моисеева Ю.В. – 46, 106, 127, 140
Мойсейук И.В. – 49
Моргун А.В. – 120
Морозкина С.Н. – 57
Морозова А.Ю. – 99
Мышляев С.Ю. – 100

Н

Назаренко К.В. – 17
Назарова Л.А. – 112
Наливаева Н.Н. – 4, 10, 11, 13, 78
Невидимова Т.И. – 47
Немова Н.Н. – 90, 114
Нестерова Л.А. – 101
Никитин В.П. – 102
Никитина Е.А. – 68, 103
Никитина Л.С. – 37, 42, 104
Новоселова Н.Ю. – 105

О

Объедков Д.А. – 66
Огиенко Н.А. – 58
Онуфриев М.В. – 46, 106, 140
Опарина Т.И. – 113
Ордян Н.Э. – 16, 107
Отеллин В.А. – 29, 97, 108

П

Павлова М.Б. – 54
Павлова Н.Г. – 112
Паскаренко Н.М. – 109
Пастухов Ю.Ф. – 55, 87, 110
Пашкевич С.Г. – 84
Паялина Т.Л. – 103
Пивина С.Г. – 107, 118
Плаксина Д.В. – 55

Плахова В.Б. – 111, 148
Плеснева С.А. – 10, 78
Подзорова С.А. – 111
Пожиленкова Е.А. – 120
Попович И.Г. – 74
Портниченко А.Г. – 118
Портниченко В.И. – 118
Потапкин А.М. – 88
Притворова А.В. – 125
Прокопенко В.М. – 57, 112
Пронина Т.С. – 85
Прохорова Т.А. – 28
Пустыгина А.В. – 113

Р

Ракицкая В.В. – 107
Рейхардт Б.А. – 105
Рендаков Н.Л. – 90, 114
Рогачевский И.В. – 148
Рогозинская Э.Я. – 115
Роик Р.О. – 88, 146
Романова И.В. – 116
Рыбникова Е.А. – 32, 63, 117, 118
Рыжова И.В. – 119
Рычкова М.П. – 15

С

Савватеева-Попова Е.В. – 103
Савельев С.В. – 35
Савенко Ю.Н. – 54
Савушкина О.К. – 28
Салинска Э. – 6, 14, 26
Салмина А.Б. – 120
Саложин С.В. – 127
Сальникова О.В. – 35
Самойлов М.О. – 121, 122, 126, 145
Сапронов Н.С. – 105
Саульская Н.Б. – 123, 130
Себенцова Е.А. – 131
Семенов Д.Г. – 26, 124
Семенова О.Г. – 125
Сидорова М.В. – 122, 126
Симонова В.В. – 86
Скоморохова Е.Б. – 54
Слаквa М.Е. – 22, 74
Слобожанина Е.И. – 40
Смирнов А.А. – 88
Смолина Н.В. – 139
Соколова Н.Ф. – 15

Солнцева С.В. – 102
Степаничев М.Ю. – 46, 106, 127,
140
Степанов М.Г. – 20, 76
Степанова Ю.И. – 40
Строев С.А. – 128
Стукач Ю.П. – 129
Судоргина П.В. – 130
Сурина Е.А. – 83
Суханова Ю.А. – 131
Сухарева Е.В. – 132
Сухов И.Б. – 133, 134
Сырейщикова Т.И. – 139

Т

Теплый Д.Л. – 74
Терешкина Е.Б. – 28
Тёрнер Э.Дж. – 4, 10, 13, 78
Тимофеева М.Р. – 135
Тимошенко Т.Е. – 136
Тиссен И.Ю. – 88
Тихонравов Д.Л. – 53
Тишкина А.О. – 18, 46
Токмачева Е.В. – 103
Томсон В.В. – 152
Торкунов П.А. – 105
Трост А.М. – 134
Туманова Н.Л. – 30, 53
Тухбатова Г.Р. – 127
Тюлькова Е.И. – 33, 128, 137

У

Угрюмов М.В. – 71, 75, 85, 96, 138
Узбеков М.Г. – 139

Ф

Фомалонт К. – 67
Фомина В.Г. – 47
Фрейман С.В. – 46, 106, 140
Фролова Е.В. – 60, 72
Фураев В.В. – 15

Х

Хавинсон В.Х. – 62
Халилов Р.И. – 62
Халисов М.М. – 136
Хаспекоев Л.Г. – 69
Хилажева Е.Д. – 120
Хожай Л.И. – 108, 141

Хотянович М.О. – 84, 142
Худоерков Р.М. – 35

Ц

Цетлин В.И. – 143

Ч

Чалисова Н.И. – 62
Черниговская Е.В. – 52, 144
Черний В.И. – 17
Черний Т.В. – 17
Чернышов М.В. – 87
Чистякова О.В. – 49, 133, 134
Чмыхова Н.М. – 31
Чурилова А.В. – 118, 122, 145

Ш

Шабанов П.Д. – 88, 146
Шавва А.Г. – 57
Шварц А.П. – 67
Швецов А.В. – 54
Шельх Т.Н. – 111, 148
Шерстнев В.В. – 45, 149
Шипилов В.Н. – 133, 134
Ширяева Н.В. – 54
Шихов С.Н. – 139
Шишкина Г.Т. – 21
Шляхто Е.В. – 152
Шмуклер А.Б. – 139
Шпагин М.В. – 19
Шпаков А.О. – 49, 50, 133, 134, 150, 151
Шпакова Е.А. – 50, 151
Шумилов Е.Г. – 88

Щ

Щербак Н.С. – 152

Я

Яковлев А.А. – 69, 154
Яковлева А.А. – 112
Яфарова Г.Г. – 84
Яценко К.А. – 51, 93

