

**XXIII ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ  
по физиологии высшей нервной деятельности и нейрофизиологии**

**30 октября 2019 года**

**10.<sup>00</sup> - 13.<sup>30</sup> - УТРЕННЕЕ ЗАСЕДАНИЕ**

*Председатель – доктор биологических наук, профессор РАН А.Ю. Малышев*

**10.<sup>00</sup> - 11.<sup>00</sup> – ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ**

**«ПРОБЛЕМЫ И НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЛЕЧЕНИЯ  
ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ»**

Лектор- **ЗАЙЦЕВ Алексей Васильевич**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией Молекулярных механизмов нейронных взаимодействий Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, г. Санкт-Петербург.

**11.<sup>00</sup> - 13.<sup>30</sup> – УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ**

*Регламент:*

*Доклад – 10 мин.*

*Ответы на вопросы – 5 мин.*

*Тайное голосование*

**Смирнов К.С.**, Антонова А.А., Ситникова Е.Ю. *(ИВНД и НФ)*

ИМПУЛЬСИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ У КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ СВЯЗАНО С НАЛИЧИЕМ ПИК-ВОЛНОВОЙ АКТИВНОСТИ.

**Погосбекян Э.Л.** *(ИВНД и НФ, ФГБУ НИИ НХ им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ)*

СОПОСТАВЛЕНИЕ ДИФФУЗИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕЖПОЛУШАРНЫХ И ФРОНТО-ОКЦИПИТАЛЬНЫХ ТРАКТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ И ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ.

**Новикова Е.С.**, Смирнов К.С. *(ИВНД и НФ)*

ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ И ВЫРАЖЕННОСТЬ АБСАНС-ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ (КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ).

**Комольцев И.Г.**, Волкова А.А. Франкевич С.О., Широков Н.И. Бутузов А.В. *(ИВНД и НФ)*

РОЛЬ НЕМЕДЛЕННЫХ СУДОРОЖНЫХ ПРИСТУПОВ И ОСТРОГО СТРЕССА В РАЗВИТИИ ДИСТАНТНОГО НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ГИППОКАМПЕ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС.

**Буркитбаев С.Е.**, Каримова Е.Д. *(ИВНД и НФ)*

АКТИВНОСТЬ ЗЕРКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ПРИ НАБЛЮДЕНИИ, ПРЕДСТАВЛЕНИИ И ВЫПОЛНЕНИИ МОТОРНЫХ ЗАДАЧ В НОРМЕ И ПРИ ЭПИЛЕПСИИ.

**Иванова В.О.**, Мальцев А.В., Баль Н.В. *(ИВНД и НФ)*

ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА СВОЙСТВА СИНАПСОВ АПИКАЛЬНЫХ И БАЗАЛЬНЫХ ДЕНДРИТОВ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА.

**Смирнов И.В.** Субач Ф.В., Малышев А.Ю. *(ИВНД и НФ)*

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ ЗОНДОВ СЕМЕЙСТВА TNC В КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ.

**Недогреева О.А.** (ИВНД и НФ)

ВЫЗВАННАЯ УДАЛЕНИЕМ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦ ПОТЕРЯ ФЕНОТИПА КЛЕТКАМИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА МЫШЕЙ МОЖЕТ ИМЕТЬ ОБРАТИМЫЙ ХАРАКТЕР.

**Новиков Д.А.** (ИВНД и НФ)

m<sup>6</sup>A-ЭПИТРАНСКРИПТОМ КУЛЬТУРЫ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫСЫ.

**14.<sup>30</sup> -15.<sup>00</sup> – СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ с присутствием авторов.**

**15.<sup>00</sup> -16.<sup>30</sup> - ВЕЧЕРНЕЕ ЗАСЕДАНИЕ**

*Председатель – кандидат биологических наук Мартынова О.В.*

**ОБСУЖДЕНИЕ СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ**

*Регламент:*

*Доклад – 10 мин.*

*Ответы на вопросы – 5 мин.*

**Бородинова А.А.** (ИВНД и НФ) (доклад 20 мин)

РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ПЕРЕСТРОЕК ХРОМАТИНА В МЕХАНИЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТИ И ПАМЯТИ.

**Федосова Е.А.,** Шацкова А.Б., Саркисова К.Ю. (ИВНД и НФ)

НАРУШЕНИЯ ЭПИЗОДИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ ПРИ АБСАНС-ЭПИЛЕПСИИ ЯВЛЯЕТСЯ СЛЕДСТВИЕМ ПОНИЖЕННОЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ МОТИВАЦИИ.

**Канцерова А. О.** (ИВНД и НФ, МГУ им. М.В. Ломоносова)

АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СИГНАЛА ОТ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В НАРКОЗЕ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ.

**Диффинэ Е.А.,** Смирнова А.А. (МГУ им. М.В. Ломоносова)

РАЗРАБОТКА МОДИФИЦИРОВАННОГО ВАРИАНТА ЭЗОПОВА ТЕСТА.

**16.30-17.00**

**Круглый стол**

"Коммерциализация научных результатов в России: программы, гранты и примеры проектов"

докладчики: Орлов Д.В. Молчанова Е.А. (Отраслевой союз "Нейронет")

**31 октября 2019 г.**

**10.<sup>00</sup> - 13.<sup>30</sup> - УТРЕННЕЕ ЗАСЕДАНИЕ**

***Председатель – доктор биологических наук, профессор РАН Бондарь И.В.***

**10.<sup>00</sup> - 11.<sup>00</sup> - ПЛЕНАРНАЯ ЛЕКЦИЯ**

**«СЕНСОРИКА ДВИЖУЩЕГОСЯ ЖИВОТНОГО»**

Лектор - **ЛАПШИН Дмитрий Николаевич**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории Обработки сенсорной информации Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН.

**11.<sup>00</sup> - 13.<sup>30</sup> - УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ**

***Регламент:***

***Доклад – 10 мин.***

***Ответы на вопросы – 5 мин.***

***Тайное голосование***

**Брошевицкая Н.Д.** Павлова И.В., Зайченко М.И., Григорьян Г.А., Онуфриев М.В., Моисеева Ю.  
*(ИВНД и НФ)*

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ВО ВЛИЯНИИ РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА  
ОБОРОНИТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ВЗРОСЛЫХ КРЫС.

**Касаткина М.Ю.** Квичанский А.А., Третьякова Л.В. *(ИВНД и НФ, НППЦ им З.П. Соловьева)*  
КОРТИКОСТЕРОИД-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ В РАЗВИТИИ ПОСТИНСУЛЬТНОЙ  
ДЕПРЕССИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ.

**Левкович К.М.** Салтыков К.А., Белов Д.А., Нижник А.Н., Украинцева Ю.В. *(ИВНД и НФ, Клиника  
новых медицинских технологий АрхиМед)*  
СЕЛЕКТИВНАЯ СУПРЕССИЯ ТРЕТЬЕЙ СТАДИИ СНА ВЛИЯЕТ НА СЕКРЕЦИЮ МЕЛАТОНИНА  
И ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТЬ. РОЛЬ АРХИТЕКТУРЫ СНА.

**Третьякова Л.В.** Квичанский А.А., Комольцев И.Г. *(ИВНД и НФ)*  
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫСЫ В  
РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ.

**Шайдуров В.А.** *(ИВНД и НФ)*  
МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ КОНЦЕНТРАЦИИ CA<sup>2+</sup> В ПРЕСИНАПТИЧЕСКОЙ  
ТЕРМИНАЛИ ХОЛЕЦИСТОКИНИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА.

**Груздева В.А.** Зайченко М.И., Павлова И.В., Брошевицкая Н.Д., Григорьян Г.А. *(ИВНД и НФ)*  
ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОЯВЛЕНИЕ  
ИМПУЛЬСИВНОГО И ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС.

**Зигмантович А.С.** Копачка М.М. *(ИВНД и НФ, ФГБУ НИИ НХ им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ)*  
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВЯЗИ МОЗГА, СОПРОВОЖДАЮЩИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ СОЗНАНИЯ  
У ПАЦИЕНТОВ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ БЕССОЗНАТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ.

**Керова К.В.** Портнова Г.В., Подлепич В.В., Мартынова О.В. *(ИВНД и НФ, ФГБУ НИИ НХ им. Н.Н.  
Бурденко МЗ РФ)*  
ЭЭГ-КОРРЕЛЯТЫ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОСПРИЯТИЯ ТАКТИЛЬНЫХ СТИМУЛОВ У ПАЦИЕНТОВ  
В ВЕГЕТАТИВНОМ СОСТОЯНИИ И КОМЕ.

Ярец М.Ю., **Кулева А.Ю.**, Струнина Ю. В. *(ИВНД и НФ, ФГБУ НИИ НХ им. Н.Н. Бурденко МЗ РФ)*

СОПОСТАВЛЕНИЕ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ КОННЕКТИВНОСТИ И РЕЗУЛЬТАТОВ НЕЙРО-ПСИХОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЛУЧЕВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕНИНГИОМАМИ МЕДИОБАЗАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПРАВОГО И ЛЕВОГО ПОЛУШАРИЙ (пилотное исследование).

**14.<sup>30</sup> -15.<sup>00</sup> – СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ с присутствием авторов.**

**15.<sup>00</sup> -16.<sup>30</sup> - ВЕЧЕРНЕЕ ЗАСЕДАНИЕ**

*Председатель – доктор биологических наук, профессор РАН Малышев А.Ю.*

**ОБСУЖДЕНИЕ СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ**

**УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ**

*Регламент:  
Доклад – 10 мин.  
Ответы на вопросы –  
5 мин.*

**Васильева Л.Н.**, Расс Б., Койано К., Бондарь И.В., Леопольд Д. (*ИВНД и НФ, Национальный институт психического здоровья, Отдел по когнитивной нейрофизиологии и визуализации, Бетесда, Мэриленд, США*) (доклад 20 мин)

КАТЕГОРИЗАЦИЯ ЗРИТЕЛЬНЫХ ЗООСОЦИАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ В НИЖНЕЙ ВИСОЧНОЙ КОРЕ МАКАК-РЕЗУСОВ.

**Зенько М.Ю.**, Рыбникова Е.А. (*ИФ им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург*)  
ПРИМЕНЕНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА И ДЕПРЕССИИ У КРЫС

**Першина Е.В.**, Камалтдинова Э.Р., Бугаев-Макаровский Н.А., Архипов В.И. (*ИТЭБ РАН, г.Пушино, Пушинский государственный естественно-научный институт, г. Пушино, МГУ им. М.В. Ломоносова*)  
ВОВЛЕЧЕНИЕ МЕТАБОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГЛУТАМАТА В НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ГИППОКАМПА, ВЫЗВАННОЙ ХЛОРИДОМ ТРИМЕТИЛОЛОВА.

**Черненькая В.Ю.**<sup>1</sup>, Фоминых В.В.<sup>1,2</sup>, Атаулина А.И.<sup>1</sup>, Горбачев К.В.<sup>1</sup>, Дружкова Т.А.<sup>3</sup>, Брылев Л.В.<sup>1,2,3</sup>, Гехт А.Б.<sup>3,4</sup>, Гуляева Н.В.<sup>2,3</sup> (*ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ, ИВНД и НФ, НИЦ имени З.П. Соловьева ДЗМ, РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ*)  
УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ СТРЕССА И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПОСЛЕ УСТАНОВКИ ЧРЕСКОЖНОЙ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ГАСТРОСТОМЫ У ПАЦИЕНТОВ С БОКОВЫМ АМИОТРОФИЧЕСКИМ СКЛЕРОЗОМ.

**ОБЩЕЕ ОБСУЖДЕНИЕ**

**ЗАКРЫТИЕ КОНФЕРЕНЦИИ**

## СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ:

**Антипова М.В.**<sup>1, 2</sup>, Суфиева Д.А.<sup>1</sup> (ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург<sup>1</sup>, Санкт-Петербургский государственный университет<sup>2</sup>)  
ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ МАРКЕРЫ РСНА И ФОСФОРИЛИРОВАННЫЙ ПО СЕРИНУ 10 ГИСТОН H3 (H3 S10ph) В ТАНИЦИТАХ ДНА ТРЕТЬЕГО ЖЕЛУДОЧКА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ СТАРЕНИИ

**Астащенко А.П.**, Варварова С.И., Зяблова П.В., Дорохов Е.В. (ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж)  
СМЕЩЕНИЕ ЗРИТЕЛЬНОГО ВНИМАНИЯ К ТРЕТИРУЮЩЕЙ ИНФОРМАЦИИ В ПЕРИОД ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА У ИСПЫТУЕМЫХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ВРАЖДЕБНОСТИ

**Белиал Е.С.**, Худякова Н.А. (Удмуртский государственный университет, Ижевск)  
ИЗМЕНЕНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ КОРЫ МОЗЖЕЧКА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ У БЕЛОЙ МЫШИ

**Васильева С.А.**<sup>1,2</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Медведева А.В.<sup>1</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>1</sup> (Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>1</sup>, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена» Санкт-Петербург<sup>2</sup>)  
ВКЛАД МАТЕРИНСКОГО И ОТЦОВСКОГО ГЕНОМОВ В ФОРМИРОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ АББЕРАЦИЙ У *Drosophila melanogaster* В УСЛОВИЯХ СЛАБОГО СТАТИЧЕСКОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ.

**Васильева Л.Н.**, Бондарь И.В. (Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности Российской академии наук)  
ОПЫТ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕГИСТРАЦИИ НЕЙРОНОВ У КРОЛИКОВ БОЛЕЕ 2.5 ЛЕТ

**Ефимова Д.И.**<sup>1</sup>, Беляков В.И.<sup>2</sup>, Громова Д.С.<sup>1</sup> (ФГАОУ ВО «Московский городской педагогический университет», Самарский филиал<sup>1</sup>, ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва»<sup>2</sup>)  
ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ФЛУОКСЕТИНА НА ПАМЯТЬ И ОБУЧЕНИЕ В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

**Заломаева Е.С.**<sup>1,2,3</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Журавлев А.В.<sup>2</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>2</sup> (Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург<sup>1</sup>, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>2</sup>, Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН<sup>3</sup>)  
ВЛИЯНИЕ ГЕНА *limk1* НА СПОСОБНОСТЬ К ОБУЧЕНИЮ У *Drosophilamelanogaster* В ПАРАДИГМЕ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОГО ПОДАВЛЕНИЯ УХАЖИВАНИЯ

**Зарипов К.А.**, Нагорнова Ж.В. (Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук (ИЭФБ РАН))  
ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ ПО ЭФФЕКТАМ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ.

**Иванова П.Н.**<sup>1,2</sup>, Журавлев А.В.<sup>2</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>2</sup> (РГПУ им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург<sup>1</sup>, ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>2</sup>)

ОСОБЕННОСТИ БРАЧНОЙ ПЕСНИ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ ЛИНИЙ *Canton-S* И *cardinal* В НОРМЕ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИОКСИДАНТА

Ивашкина О. И., Рогожникова О. С., Торопова К. А., Федотов И.В. (Институт перспективных исследований мозга Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова)

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ РЕТРОСПЛЕНИЯЛЬНОЙ КОРЫ МЕТОДОМ ОПТОВОЛОКОННОЙ ФОТОМЕТРИИ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ НОВОГО ПРОСТРАНСТВА И ОБЪЕКТОВ У МЫШЕЙ

**Саликова Д.А.**<sup>1</sup>, Петропавловская Е.А.<sup>2</sup> (Санкт-Петербургский Государственный Университет<sup>1</sup>, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>2</sup>)

СЛУХОВЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ В УСЛОВИЯХ МАСКИРОВКИ

**Соколова М.Г.**<sup>1</sup>, Александров Н.Ю.<sup>1</sup>, Лопатина Е.В.<sup>2,3</sup>, Гавриченко А.В.<sup>3</sup> (Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург<sup>1</sup>, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург<sup>2</sup>, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН г. Санкт-Петербург<sup>3</sup>)

ИЗУЧЕНИЕ ТЕРМИНАЛЬНОГО СПРУТИНГА У БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННОЙ МОТОРНОЙ И СЕНСОРНОЙ НЕВРОПАТИЕЙ I ТИПА В КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ

**Спивак Ю.С.**, Раводина А.М., Добрякова Ю.В., Маркевич В.А., Большаков А.П. (Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности Российской академии наук)

ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ МЕДИАЛЬНОГО СЕПТАЛЬНОГО ЯДРА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫСЫ

**Швадченко А.М.**<sup>1,2</sup>, Волобуева М.Н.<sup>1</sup>, Винарская А.Х.<sup>1</sup>, Баль Н.В.<sup>1</sup> (Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности Российской академии наук, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России<sup>2</sup>)

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ЗУБЧАТОЙ ФАСЦИИ ГИППОКАМПА КРЫС ПОСЛЕ ОБУЧЕНИЯ

## ИМПУЛЬСИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ У КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ СВЯЗАНО С НАЛИЧИЕМ ПИК-ВОЛНОВОЙ АКТИВНОСТИ

Смирнов К.С., Антонова А.А., Ситникова Е.Ю.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: kirillsmirnov@ihna.ru*

**Введение.** Импульсивность можно определить как тенденцию действовать преждевременно, без учета последствий [Dalley et al., 2011]. Показано, что импульсивность повышена при различных формах психоневрологических патологий [Dalley & Robbins, 2017]. Высокие значения импульсивности у людей связываются с низкой академической успеваемостью и сложностями в обучении [Loe & Feldman, 2007]. Среди пациентов детского возраста, имеющих диагноз «эпилепсия», до 30% имеют диагноз «синдром дефицита внимания и гиперактивности» [Parisietal., 2010], для которого характерна высокая импульсивность, а также до 50% данных детей имеют сложности в усвоении школьной программы [Modietal., 2019]. Показано, что крысы, предрасположенные к абсанс-эпилепсии, имеют трудности в обучении [Leo et al., 2019]. Однако по данным нашей лаборатории среди крыс, предрасположенных к абсанс-эпилепсии, до 30% не имеют выраженной пик-волновой активности, поэтому на основании имеющихся результатов нельзя сделать вывод о связи абсанс-эпилепсии и когнитивных дефектов. Также не определено, какие именно когнитивные особенности вносят вклад в трудности обучения. Мы предположили, что наличие пик-волновой активности будет связано с повышенным уровнем импульсивности, который будет способствовать более медленному обучению.

**Методы.** Исследование было проведено на 25 самцах крыс линии WAG/Rij в возрасте от 3 до 4 месяцев. Для оценки влияния импульсивности на обучение мы использовали автоматизированную установку Intellicage, расположенную в изолированной комнате с 12-часовым циклом свет:темнота. Данная установка позволяет оценить активность и различные аспекты обучения у животных, основываясь на регистрации их питьевого поведения. Как минимум за три дня до начала тестирования крысам были вживлены чипы с индивидуальными номерами, позволяющие регистрировать поведение животных в установке. Одновременно в установке находились 3-4 крысы. Каждый эксперимент длился до 11 дней. Перед тестированием по протоколу оценки импульсивности животные проходили суточную адаптацию к установке. Согласно экспериментальному протоколу, крысы могли получить воду в любом из четырех углов установки после выполнения следующей последовательности действий: нажатие носом в специальное отверстие (после которого в углу демонстрировался условный стимул, состоящий из светодиодов белого цвета) – 2-х секундное ожидание (нажатие носом во время которого приводило к блокировке дверей, ведущих к поилке) – прекращение демонстрации условного стимула – второе нажатие (после которого дверь к поилке открывалась на 7 секунд). При достижении животным критерия обучения предъявление условного стимула увеличивалось на 2 секунды. В возрасте 4,5 месяцев крысам были вживлены электроды для записи ЭЭГ. Как минимум через неделю после операции была проведена суточная регистрация ЭЭГ. После регистрации ЭЭГ крысы, имеющие менее 1 эпизода пик-волновой активности в час, были выделены в группу «без эпилептического

фенотипа» (n=6), остальные животные составили группу «с эпилептическим фенотипом» (n=19).

**Результаты.** 8 животных из 25 достигли критерия обучения в 2-секундной фазе эксперимента, и 1 животное достигло критерия в 4-секундной фазе. 1 животное было удалено из эксперимента, так как не совершило ни одной правильной попытки в течение первых суток эксперимента. Во время пребывания в установке наблюдалась инверсия активности – в начале эксперимента крысы были более активны в темную часть суточного цикла, в конце крысы совершали больше посещений в светлое время. Крысы с эпилептическим фенотипом чаще посещали углы установки, чем крысы без пик-волновой активности. Доля успешных попыток в 1-ый день тестирования составляла порядка 5% и резко возростала на 2 день до 13%, сохранялась на этом уровне до 5-8 дня и снова возростала к 9 дню до 25%. У крыс без пик-волновой активности доля успешных питьевых реализаций была значимо выше (18,5%), чем у крыс с эпилептическим фенотипом (13%).

**Обсуждение.** Проведенное нами исследование выявило, что среди крыс, имеющих предрасположенность к абсанс-эпилепсии, именно крысы с выраженным эпилептическим фенотипом имеют более высокий уровень импульсивности, чем крысы без пик-волновой активности, что приводит к более медленному обучению и может быть причиной когнитивных проблем у данных животных. Наши данные согласуются с данными, полученными на пациентах с абсанс-эпилепсией, демонстрирующие высокий уровень импульсивности [Cermnarataetal., 2013]. Возможная связь между эпилепсией и синдромом дефицита внимания и гиперактивности до сих пор неясна и проявления импульсивного поведения часто расцениваются как реакция на терапию первичного заболевания [Verrottietal., 2018]. Наше исследование показало, что импульсивность связана с наличием пик-волновой активности, что предполагает единую генетическую природу данных нарушений.

#### **Список литературы:**

1. Cermnarata C, D'agati E, Casarelli L, et al. Attention impairment in childhood absence epilepsy: an impulsivity problem?. *EpilepsyBehav.* 2013;27(2):337-41.
2. Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW. Impulsivity, compulsivity, and top-down cognitive control. *Neuron.* 2011;69(4):680-94.
3. Dalley JW, Robbins TW. Fractionating impulsivity: neuropsychiatric implications. *NatRevNeurosci.* 2017;18(3):158-171.
4. Leo A, Citraro R, Tallarico M, et al. Cognitive impairment in the WAG/Rij rat absence model is secondary to absence seizures and depressive-like behavior. *ProgNeuropsychopharmacolBiol Psychiatry.* 2019;94:109652.
5. Loe IM, Feldman HM. Academic and educational outcomes of children with ADHD. *AmbulPediater.* 2007;7(1 Suppl):82-90.
6. Modi AC, Gutierrez-Colina AM, Wagner JL, et al. Executive functioning phenotypes in youth with epilepsy. *EpilepsyBehav.* 2019;90:112-118.
7. Parisi P, Moavero R, Verrotti A, Curatolo P. Attention deficit hyperactivity disorder in children with epilepsy. *BrainDev.* 2010;32(1):10-6.
8. Verrotti A, Moavero R, Panzarino G, Di paolantonio C, Rizzo R, Curatolo P. The Challenge of Pharmacotherapy in Children and Adolescents with Epilepsy-ADHD Comorbidity. *ClinDrugInvestig.* 2018;38(1):1-8.



# СОПОСТАВЛЕНИЕ ДИФФУЗИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МЕЖПОЛУШАРНЫХ И ФРОНТО-ОКЦИПИТАЛЬНЫХ ТРАКТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ И ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ

*Погосбекян Э.Л.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России  
e-mail: [epogosbekyan@nsi.ru](mailto:epogosbekyan@nsi.ru)*

Важность межполушарных и ассоциативных проводящих путей в формировании глобальных нейронных сетей была показана в ряде ЭЭГ- [Шеповальников с соавт., 1997-1999; Болдырева с соавт., 2000, 2003; Leon-Carrion et al., 2012] и МРТ-исследований [Захарова с соавт., 2010]. Также ее подтверждают полученные высокие и статистически значимые коэффициенты корреляции межполушарной когерентности ЭЭГ и фракционной анизотропии (ФА) в мозолистом теле (МТ) с клиническими показателями сознания пациентов, получивших тяжелую черепно-мозговую травму (ТЧМТ) [Potapov et al., 2014; Sharova et al., 2008, 2018; Pogosbekyan et al., 2015]. Диффузионно-куртозисная МРТ (ДК МРТ) стала развитием "классической" диффузионной МРТ, использующейся в трактографии. ДК МРТ позволяет получить дополнительную информацию о повреждениях белого вещества головного мозга [E. Fietemans et. al. 2015].

Цель работы - сравнительная оценка информативности традиционного показателя ФА и параметров куртозиса на основе их скореллированности с клиническими характеристиками, а также группового сравнения диффузионных параметров у пациентов и здоровых добровольцев.

ДК МРТ выполнена у 13 здоровых добровольцев (8 муж., 5 жен., возраст от 21 до 55, средний 34) и 9 пациентов (6 муж., 3 жен., возраст от 19 до 40, средний 26) с диффузно-аксональным повреждением (ДАП) мозга вследствие ТЧМТ. Сканирование пациентов проводилось в промежутке с 5 по 19 день после травмы. В каждом вокселе МРТ вычисляли фракционную анизотропию (ФА) и параметры куртозиса: радиальный куртозис (РК), аксиальный куртозис (АК), средний куртозис (СК), куртозисную анизотропию (КА) и долю аксональной воды (ДАВ). Для оценки состояния МТ ставили ROI на срединном сагиттальном срезе по схеме S. Witelson [S. Witelson et. al, 1989]. Для оценки состояния трактов НЛЗ справа и слева на фронтальных срезах ставили по 3 зоны измерений (region of interest, ROI): в области виска, лба и затылка. Для статистических вычислений учитывались замеры только в тех вокселях, где ROI пересекались с трактами. Для каждого ROI вычисляли корреляции по Спирмену между диффузионными параметрами и клиническими показателями сознания по шкале комы Глазго (ШКГ), двигательного дефекта (гемипарез), а также исходами травматической болезни по шкале исходов Глазго (ШИГ). Групповые сравнения проводили непараметрическим тестом Манна-Уитни.

Корреляции по Спирмену между диффузионными параметрами (ФА и куртозиса) и ШИГ оказались статистически незначимыми ( $p > 0.05$ ) почти во всех анализируемых областях. Исключение: затылочная область левого НЛЗ, где корреляция РК и ШИГ равна 0,77 ( $p < 0.05$ ).

Что касается текущего состояния пациентов, то статистически значимые и высокие корреляции (больше 0,7) выявлены между ШКГ и диффузионными параметрами ФА, РК, АК и КА (рис. 1). Можно полагать, что указанные метрики куртозиса, наряду с ФА, наиболее чувствительны к микроструктурным изменениям в белом веществе при его повреждении. Для гемипареза справа и слева также выявлены высокие корреляции (порядка 0,7) в лобной области правого НЛЗ, а также в пяти наиболее крупных областях МТ. Наибольшее число статистически значимых корреляций характерны для РК, КА и ФА.

Групповые сравнения диффузионных характеристик между нормой и патологией выявили следующее: по НЗЛ значимые отличия ( $p < 0.001$ ) были выявлены лишь для лобной области правого тракта по параметрам ФА, СК, РК и ДАВ. По МТ: в клюве отличий не выявлено, в колене - лишь для параметра КА. В большинстве из 5 остальных зон МТ значимые различия выявлялись для параметров ФА, КА, РК, АК.

Представленные результаты корреляционного анализа и групповых сравнений показывают, что наиболее чувствительными метриками куртозиса при изучении сохранности белого вещества являются РК и КА. Измерение этих диффузионных характеристик дает дополнительную информацию о тканевых свойствах мозга, что указывает на их информативность в исследованиях восстановления сознания у пациентов с ТЧМТ.

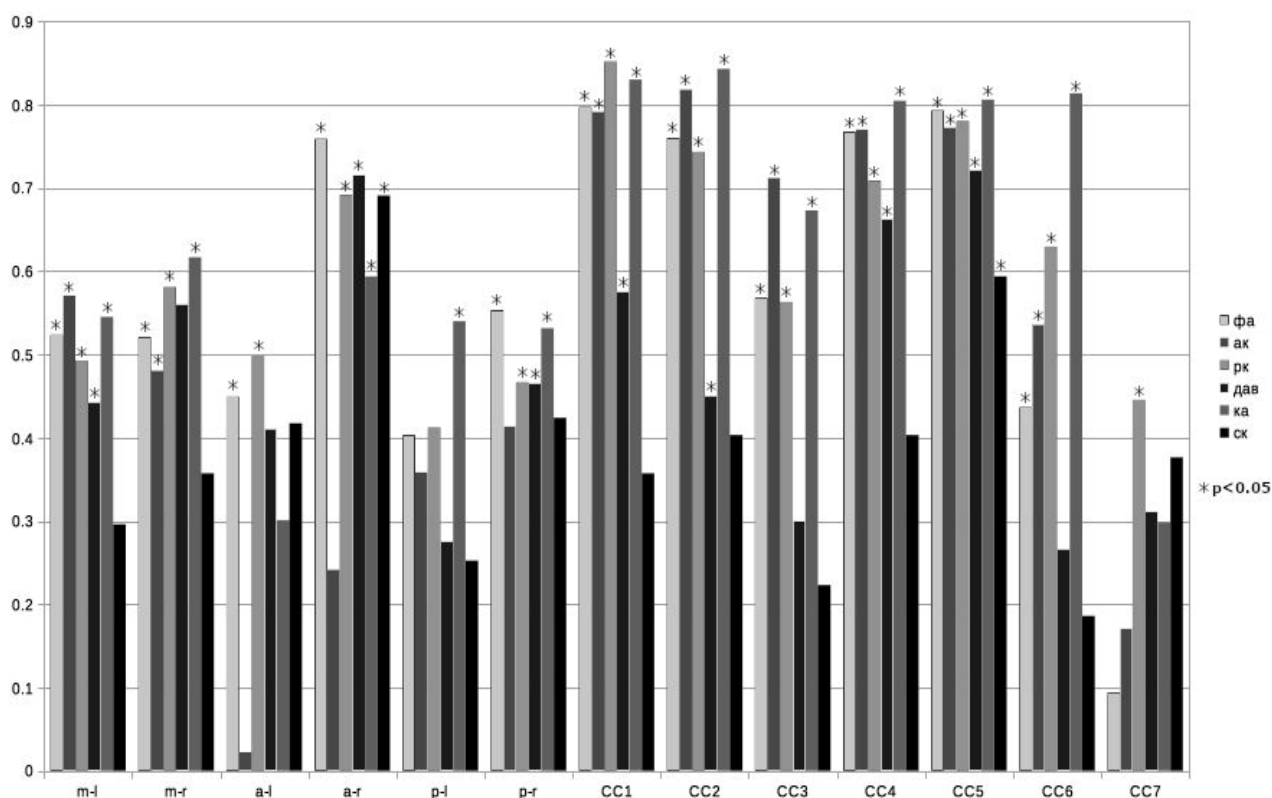


Рис. 1. Корреляции по Спирмену между диффузионными параметрами и ШКГ. Обозначения ROI: первые шесть зон — области НЛЗ, где первые буквы «а», «т» и «л» обозначают лобную, височную и затылочную области, соответственно, а последние буквы «l» и «r» обозначают левую и правые стороны. Последующие семь зон СС1, ... ,СС7 — области МТ на сагиттальном срезе, нумерация от затылка ко лбу.

# ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИЕ НЕЙРОНЫ ЧЕРНОЙ СУБСТАНЦИИ И ВЫРАЖЕННОСТЬ АБСАНСЭПИЛЕПСИИ У КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ (КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ).

*Новикова Е.С., Смирнов К.С.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук e-mail:  
[novikova.ekserg@yandex.ru](mailto:novikova.ekserg@yandex.ru)*

Ранее в лаборатории нейроонтогенеза было проведено сопоставление числа нейронов (окраска препаратов по Нисслю) в компактной части Черной субстанции и выраженности абсанс-эпилепсии у 10 месячных крыс линии Wag/Rij, и выявлена прямая корреляционная зависимость этих показателей (чем меньше нейронов, тем менее выражена эпилептиформная активность)(Ситникова Е. Ю. и др. 2012; Birioukova, L.M. et al. 2016). В связи с тем, что компактная часть черной субстанции представлена дофаминергическими нейронами, было сделано заключение, что уменьшение числа дофаминергических нейронов у крыс линии Wag/Rij отражает адаптацию к развивающейся абсанс-эпилепсии. Однако, это заключение нельзя было распространить на дофаминергические нейроны всей Черной субстанции, так как в анализ не были включены дофаминергические нейроны ретикулярной части Черной субстанции, в которой наряду с ГАМК-ергическими нейронами присутствует значительное число дофаминергических.

В настоящей работе был использован гистохимический метод выявления дофаминергических нейронов, что позволило судить о дофаминергических клетках не только в компактной, но и в ретикулярной частях Черной субстанции, и осуществить корреляционный анализ между эпилептической активностью у крыс линии Wag/Rij и общим состоянием дофаминергических нейронов в Черной субстанции.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ:** Эксперименты проведены на взрослых крысах линии WAG/Rij, в соответствии с требованиями Директивы Совета Европейского Сообщества (86/609/ЕЕС) об использовании животных для экспериментальных исследований.

Исследование ЭЭГ выполнено на 7 самцах крыс линии WAG/Rij. Регистрирующие электроды были вживлены под общим хлоралгидратным наркозом (25 мг/кг) 3-х месячным животным эпидурально в правое полушарие в область лобной, соматосенсорной и затылочной коры. ЭЭГ регистрировали у ненаркотизированных, свободно передвигающихся животных в возрасте 9 месяцев, в темное время суток, когда эпилептическая активность обычно максимальна. Анализ эпилептической активности на ЭЭГ осуществляли off-line, учитывая суммарную длительность эпилептиформной активности, среднюю длительность эпилептиформности за 1 час, число разрядов за все время регистрации, среднее число разрядов за 1 час, среднюю длительность разрядов. В возрасте 10 месяцев животных умерщвляли. Головной мозг извлекали, фиксировали в растворе 4% формалина на фосфатном буфере, замораживали, изготавливали микросрезы толщиной 20 мкм.

Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием первичных антител к тирозингидроксилазе Anti-Tyrosine-Hydroxylase antibody (Abcam, #ab112-100mkl) и системы визуализации Rabbitspecific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit (Abcam, #ab970) по стандартному протоколу, рекомендованному Abcam. Подсчет окрашенных нейронов проводили в Черной субстанции при увеличении 1:320. Площадь, занимаемую дофаминергическими нейронами черной субстанции измеряли с помощью программы ImageJ. Для морфологического контроля использовали соседние срезы, окрашенные по Нисслю. В ходе исследования оценивали площадь, занимаемую дофаминергическими нейронами, количество и плотность дофаминергических клеток.

Для статистического анализа использовали непараметрический корреляционный анализ по Спирману.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** Анализ показал, что число нейронов и плотность их распределения не коррелируют с выраженностью эпилептической активности. В то же время, была обнаружена прямая корреляционная зависимость между площадью, занимаемой дофаминергическими нейронами, и числом дофаминергических нейронов - чем меньше площадь, тем меньше нейронов (коэффициент по Спирману  $r = 0.79$ ;  $p=0.036$ ). Сопоставление площади, занимаемой дофаминергическими нейронами с показателями эпилептической активности выявило обратную корреляционную зависимость между площадью и суммарной длительностью эпилептиформной активности ( $r = - 0.82$ ;  $p=0.032$ ), площадью и средней длительности эпилептиформной активности за 1 час ( $r = - 0.80$ ;  $p=0.036$ ), площадью и числом разрядов за все время регистрации ( $r = - 0.7$ ;  $p=0.013$ ), а так же площадью и средним числом разрядов за 1 час ( $r = - 0.65$ ;  $p=0.036$ ),

Таким образом, чем меньше площадь, занимаемая дофаминергическими нейронами, тем эпилептическая активность больше выражена.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Ранее обнаружено, что у животных с меньшим числом нейронов в компактной части Черной субстанции общая продолжительность пик-волновой активности на ЭЭГ была меньше, и наоборот. На основании этого было сделано заключение, что изменения в Черной субстанции отражают адаптационный процесс. (Ситникова Е. Ю. и др. 2012; Birioukova, L.M. et al. 2016). Представленные нами исследования не выявили значимой корреляции между числом дофаминергических нейронов во всей Черной субстанции и выраженностью абсанс-эпилепсии. В связи с тем, что в настоящей работе была установлена положительная корреляционная связь между числом дофаминергических нейронов и площадью, занимаемой ими, нами проведено сопоставление этой площади и эпилептической активности, что выявило обратную корреляцию этих показателей. Таким образом, при совокупном анализе обеих частей Черной субстанции, можно говорить о неоднозначном участии дофаминергических нейронов в развитии абсанс эпилепсии. Мы полагаем, что уменьшение числа дофаминергических нейронов в компактной части Черной субстанции отражает адаптационный процесс, в то время как уменьшение числа нейронов в ретикулярной части (о чем свидетельствует уменьшение площади, занимаемой черной субстанцией), является следствием/причиной развивающейся патологии. Если согласиться с тем, что дофаминергические нейроны Черной субстанции участвуют в двух разных механизмах, то отсутствие значимой корреляции общего числа дофаминергических нейронов и выраженности абсанс-эпилепсии, вполне логично.

## **Литература:**

1. Ситникова Е. Ю., Егорова Т.Н., Раевский В.В. Уменьшение плотности нейронов в компактной части черной субстанции коррелирует с низкой пик волновой активностью у крыс линии WAG/Rij. ЖВНД. 2012; 62(5): 619-628.
2. Birioukova, L.M., Sitnikova, E.Y., Kulikov, M.A., Raevsky V.V. Compensatory Changes in the Brain Dopaminergic System of WAG/Rij Rats Genetically Predisposed to Absence Epilepsy. BullExpBiolMed. 2016; 161(5): 662-665

# РОЛЬ НЕМЕДЛЕННЫХ СУДОРОЖНЫХ ПРИСТУПОВ И ОСТРОГО СТРЕССА В РАЗВИТИИ ДИСТАНТНОГО НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В ГИППОКАМПЕ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС

*Комольцев И.Г., Волкова А.А. Франкевич С.О., Широкова Н.И. Бутузов А.В.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук*

**Введение.** Отдаленные последствия черепно-мозговой травмы (ЧМТ), такие как когнитивные нарушения, депрессия и эпилепсия тесно связаны с повреждением гиппокампа. Нейровоспаление в гиппокампе у животных может развиваться в результате острого стресса или судорожных приступов, однако механизмы дистантного повреждения гиппокампа после ЧМТ до сих пор остаются до конца не изученными. Показано, что в ответ на острое повреждение в коре и в гиппокампе происходит экспрессия про- и противовоспалительных цитокинов. Стресс, испытываемый в остром периоде ЧМТ, проявляется активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и повышением уровня кортикостерона в крови. Ранние эффекты КС в гиппокампе могут иметь ключевое значение в развитии длительных изменений. С другой стороны, судорожная активность может играть свою роль как в непосредственном повреждении гиппокампа, так и в усилении стрессорного ответа на фокальное повреждение коры. Взаимодействие немедленной судорожной активности, острого стресса и провоспалительных цитокинов в патогенезе дистантного повреждения гиппокампа и отдаленных последствий ЧМТ на данный момент представляется нам недостаточно изученным.

**Цели исследования.** Анализ немедленных судорожных приступов после ЧМТ. Анализ повреждения в неокортексе. Изучение динамики КС и провоспалительных цитокинов в крови и гиппокампе крыс в первые две недели после ЧМТ. Сопоставление длительности немедленных судорожных приступов и восстановления рефлексов после черепно-мозговой травмы, площади повреждения в неокортексе, уровня кортикостерона и воспалительных цитокинов в крови и гиппокампе.

**Материалы и методы.** Исследование проводили на 120 крысах самцах линии Wistar средней массой 500г в возрасте около 6 месяцев. ЧМТ моделировали нанесением гидродинамического удара силой около 3 атм в область правой сенсомоторной коры после полного выхода из наркоза; ложную операцию (ЛО) проводили без нанесения гидродинамического удара; с крысами группы чистого контроля (К) хирургические манипуляции не проводили. По видеозаписям острых судорог в результате ЧМТ (n=68) анализировали длительность и семиологию судорожного приступа, дыхание животного, наличие цианоза конечностей и время восстановления реакции на боль и вестибуло-спинального рефлекса (ВСП). Животных выводили из эксперимента на 1, 3, 7 и 14 сут после краниотомии путем декапитации для биохимического анализа, а также на 3 и 7 сутки путем кардиоперфузии для гистологического анализа. Проводили сбор декапитационной крови, выделяли отделы гиппокампа (правый и левый дорсальный; правый и левый вентральный гиппокампы). С помощью ИФА определяли уровни кортикостерона (КС), ИЛ1- $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО $\alpha$  в крови и гиппокампе на 4 временных точках. Срезы мозга окрашивали по методу Ниссля и определяли площадь области повреждения, а также степень некроза в неокортексе.

**Результаты.** Судорожные проявления той или иной степени выраженности наблюдали у всех животных после ЧМТ. Показана зависимость длительности острых судорожных приступов и времени последующего восстановления рефлексов у крыс в первые минуты после травмы. Длительность восстановления рефлексов у выживших животных коррелировала уровнем ИЛ-1 в крови. Площадь повреждения в неокортексе увеличивалась с 3

к 7 суткам после ЧМТ, и однозначных корреляций степени и площади повреждения в неокортексе с судорогами выявлено не было.

Уровень КС в крови повышался на 1, 3 и 14 сут после ЧМТ, а в гиппокампе – только на 3 сут в дорсальном и в вентральном отделах ипсилатерального и контралатерального полушария. Уровень КС в гиппокампе коррелировал с уровнем КС в крови. Кроме того, уровень КС в крови зависел от времени нанесения ЧМТ – при травме в утренние часы (и низком системном уровне КС) повышение КС после ЧМТ было более выражено.

Повышение уровня интерлейкинов (ИЛ-1, ФНО $\alpha$ ) на 1 день отмечалось в крови и в ипсилатеральном дорсальном гиппокампе (ИЛ-1) со снижением к 3 суткам; на 7 сутки отмечается повторное повышение ИЛ-1 в крови, ипсилатеральном и контралатеральном гиппокампе; ИЛ-6 в ипсилатеральном гиппокампе повышался позже - к 14 сут. Уровень ИЛ-1 в контралатеральном гиппокампе на 7 сутки и ИЛ-6 в контралатеральном гиппокампе на 14 сутки коррелировал с уровнем КС в гиппокампе и системном кровотоке; в ипсилатеральном гиппокампе подобная корреляция отсутствовала. Кроме того, на 7 сутки уровень КС в крови, а также уровень КС, ИЛ-1 и ИЛ-6 в контралатеральном гиппокампе коррелировал с длительностью клонической фазы острых судорог у крыс; на 14 сутки – уровень КС в крови коррелировал с длительностью тонической фазы.

**Выводы.** Впервые проанализирована динамика КС и провоспалительных цитокинов в крови и гиппокампе крыс в первые 2 недели после ЧМТ. Впервые детально проанализированы немедленные судороги в результате ЧМТ. Полученные характеристики острых судорог и уровень КС сопоставлены с биохимическими изменениями в крови и дорсальном и вентральном гиппокампе. Найденные изменения свидетельствуют о наличии зависимых от кортикостерона процессов нейровоспаления в гиппокампе. Острые судорожные приступы и острый стресс имеют важное значение в запуске длительно развивающегося хронического нейровоспаления в гиппокампе, приводящее в отдаленном периоде ЧМТ к когнитивным, эмоциональным расстройствам, а также поздним неспровоцированным судорожным приступам.

*Поддержано грантом РФФИ № 18-315-00146*

# АКТИВНОСТЬ ЗЕРКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ПРИ НАБЛЮДЕНИИ, ПРЕДСТАВЛЕНИИ И ВЫПОЛНЕНИИ МОТОРНЫХ ЗАДАЧ В НОРМЕ И ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

***Буркитбаев С.Е., Каримова Е.Д.***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: [wannx@mail.ru](mailto:wannx@mail.ru)*

## **Введение**

Зеркальная система мозга (ЗСМ) впервые была обнаружена группой итальянских исследователей во главе с Джакомо Ризоллатти у макак [Rizzolatti G et al. Premotor cortex and the recognition of motor actions//Cogn.Brain Res.V. 1996;3:131– 141]. На сегодняшний день наличие подобной системы у человека подтверждено множеством исследований, результаты которых указывают на то, что ЗСМ вовлечена в обеспечение таких важных процессов как подражание, научение через подражание, понимание намерений и эмоций других людей, формирование социальной коммуникации.

## **Гипотеза исследования**

Активация ЗСМ происходит в ответ на предъявляемые стимулы и связана с десинхронизацией мю-ритма.

## **Цель исследования**

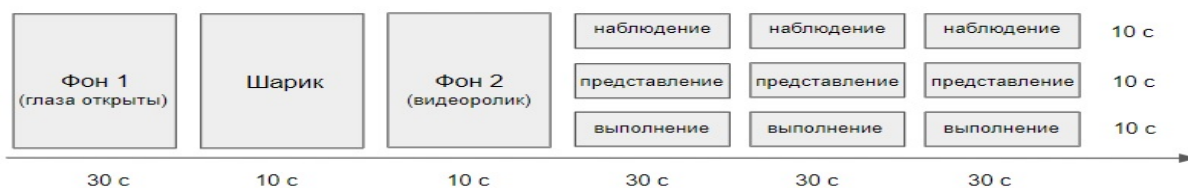
Определить степень и области активации зеркальной системы мозга у здоровых испытуемых и больных с эпилепсией при помощи регистрации ЭЭГ.

## **Методика исследования**

Исследование проводилось на двух группах испытуемых: контрольной и пациентах, страдающих эпилепсией. В контрольную группу вошли 22 практически здоровых человека (6 мужчин, 16 женщин). Группу пациентов составили 72 человека (38 мужчин, 34 женщины) с фокальной симптоматической эпилепсией. Все испытуемые были в возрасте от 18 до 50 лет, средний возраст 34 года.

Разработанная нами методика включает предъявление блоков заданий, которые должны активировать ЗСМ. В качестве заданий испытуемым было предложено посмотреть видеоролик с запечатленным на нем движением, затем представить себе его выполнение и затем выполнить увиденное движение. Нами были выбраны следующие движения: простое нецеленаправленное (сжатие руки), целенаправленное моторное движение (захват чашки) и движение, которое задействует обе руки (хлопки). Также же было предложено просмотреть видеоролик с движением, которое не должно бы вызывать активацию ЗСМ (движение металлического шарика).

Записи ЭЭГ затем были разбиты на 4 блока (ФОН, СЖИМАНИЕ, ЧАШКА, ХЛОПКИ). Каждый блок, за исключением блока ФОН, состоял из трех фрагментов: наблюдение, представление и выполнение действия. Для каждого фрагмента был получен спектр мощности в полосах частот 4-6 Гц (тета 1-ритм), 6-8 Гц (тета 2-ритм), 8-10,5 Гц (альфа 1-ритм), 10,5-13 Гц (альфа 2-ритм), 13-24 Гц (бета 1-ритм), 24-35 Гц (бета 2-ритм).



Для статистической обработки данных использовалась программа STATISTICA. Для получения пространственного распределения интенсивности активированных областей использовалась программа LORETA.

## Результаты и обсуждение

Десинхронизация мю-ритма, которая является показателем активности ЗСМ, наблюдается только в контрольной группе в отведениях Т5, Т6, которые традиционно связывают с деятельностью ЗСМ.

Самые значительные изменения мощности ритмов по сравнению с фоном были выявлены при выполнении моторных действий в обеих группах, однако, у здоровых данная динамика была более выражена (факторный ANOVA,  $p < 0.05$ ). Сравнение относительных мощностей ритмов между различными блоками (СЖИМАНИЕ, ХЛОПКИ, ЧАШКА) показало, что наибольшие изменения мощности мю, тета и бета ритмов наблюдаются в третьем блоке (ЧАШКА). Данная задача, по-видимому, была наиболее сложной для выполнения. При этом в бета-диапазоне частот также проявляются межгрупповые различия – в контрольной группе повышение мощности выражено более значительно. Подобная динамика мощности бета-ритма в различных задачах, вероятно, обусловлена тем, что группа пациентов принимает противосудорожные препараты, которые в свою очередь сказываются на общей активности мозга. Сниженный уровень бета-активности у пациентов также может указывать и на наличие сопутствующих аффективных расстройств, в частности депрессии.

С помощью программы LORETA были получены картины пространственного трехмерного распределения интенсивности активированных систем нейронов. Были выявлены поля Бродмана, соответствующие зонам максимальной интенсивности и активации ЗСМ для пациентов с эпилепсией (4,19,20) и контрольной группы (5,8,20,34), а также не специфические поля активации (6, 40, 43), которые также активировались при просмотре видео с движением шарика (рис. 1).

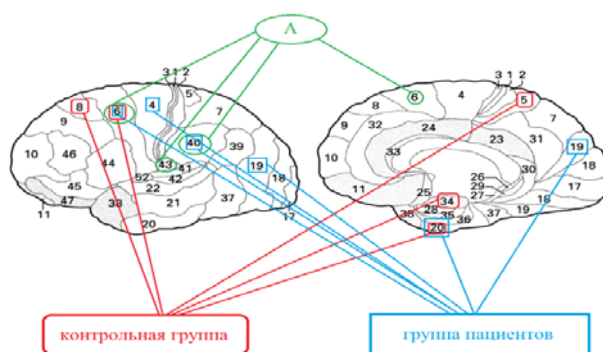


Рисунок 1 – Области активации ЗСМ у пациентов и группы контроля. А – области десинхронизации мю-ритма при наблюдении за движением металлического шарика для обеих групп.

Многие исследователи связывают поля 6 и 40 с активизацией ЗСМ при наблюдении за действиями субъектов, однако, наше исследование показало, что активация может быть вызвана также наблюдением за движением неодушевленных предметов. Кроме того, у пациентов в ответ на предъявляемые стимулы активировались зрительная (19) и моторная (4) области, а в контрольной группе – соматосенсорная (5) кора, а также задняя лобная доля и область задней поясной коры.

## Заключение

Проведенное нами исследование показало, что ряд задач, таких, как наблюдение, представление и выполнение различных двигательных актов сопровождаются статистически значимым повышением уровня десинхронизации мю-ритма только в контрольной группе испытуемых. Динамика мощности бета-ритма в различных задачах говорит о том, что контрольная группа в целом более активно реагирует в ответ на предъявляемые стимулы.



## ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА НА СВОЙСТВА СИНАПСОВ АПИКАЛЬНЫХ И БАЗАЛЬНЫХ ДЕНДРИТОВ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА

*Иванова В.О., Мальцев А.В., Баль Н.В.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: [4340434@gmail.com](mailto:4340434@gmail.com)*

АМПА рецепторы – это ионотропные рецепторы глутамата, которые обеспечивают основную возбуждающую проводимость синапсов в головном мозге. Они могут состоять из субъединиц 4 типов: GluR1, GluR2, GluR3 и GluR4. У взрослых животных практически вся мРНК GluR2 субъединицы в мозге подвергается редактированию, что приводит к замене нейтральной аминокислоты глутамина на положительно заряженный аргинин. Такая замена изменяет электрофизиологические свойства GluR2-содержащих АМПА-рецепторов (GluR2<sup>+</sup>). GluR2<sup>+</sup> и GluR2<sup>-</sup> АМПА-рецепторы играют разные роли в механизмах пластичности, развития, патологий и их концентрация в зрелых нейронах меняется.

С помощью иммуноцитохимических и молекулярно-биологических методов было показано, что оксид азота, участник множества клеточных каскадов, задействован и в механизмах встраивания обоих типов АМПА-каналов. Чтобы исследовать влияние оксида азота на распределение АМПА-рецепторов в разных дендритах пирамидных нейронов гиппокампа, мы провели электрофизиологические эксперименты на срезах мозга мышей возрастом 25-40 дней. Для регистрации токов мы использовали метод пэтч-клэмп в режиме «целая клетка» в нейронах поля CA1 гиппокампа, стимуляцию проводили с помощью стеклянных электродов в str. radiatum и str. oriens. Мы показали, что отношение амплитуды вызванного стимуляцией пресинаптических волокон постсинаптического тока на отрицательном и положительном потенциале клетки (индекс выпрямления, rectification index) на апикальных дендритах в str. radiatum достоверно выше, чем на базальных. По литературным данным, это свидетельствует о разном вкладе GluR2<sup>-</sup> АМПА рецепторов в постсинаптические токи. При блокаде синтеза оксида азота эта разница нивелируется за счет изменения показателя вклада на апикальных дендритах. Мы полагаем, что это происходит за счет того, что в апикальные дендриты встраиваются дополнительные GluR2<sup>+</sup> каналы, так как путем регистрации АМПА/НМДА соотношения мы обнаружили, что при блокаде синтеза оксида азота вклад токов АМПА каналов возрастает по сравнению с контролем. Кроме того, в пилотных экспериментах методом насыщения кобальтом мы обнаружили, что кальциевая проводимость глутаматергических рецепторов может зависеть от синтеза оксида азота. Также мы выяснили, что оксид азота по-разному задействован в механизмах долговременной потенциации в str. radiatum и str. oriens.

*Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-01796.*

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫХ КАЛЬЦИЕВЫХ ЗОНДОВ СЕМЕЙСТВА TnC В КУЛЬТУРЕ НЕЙРОНОВ

*Смирнов И.В., Субач Ф.В., Малышев А.Ю.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук*

Оптические методы регистрации нейронной активности с применением различных флуоресцентных зондов в виду своей малой инвазивности и высокого пространственного разрешения широко распространены в различных физиологических исследованиях. В настоящее время, всё более и более популярным методом становится кальциевый имиджинг — регистрация изменения интенсивности флуоресценции специального зонда в ответ на изменение концентрации свободных ионов  $Ca^{2+}$  внутри клеток.

Наиболее распространенным семейством генетически кодируемых кальциевых зондов является семейство GCaMP, где в качестве кальций-связывающего домена используется кальмодулин, клонированный из мышей. Поскольку кальмодулин является одним из важнейших регуляторных белков, то его неконтролируемая экспрессия в составе зонда может приводить к ряду побочных эффектов, что было продемонстрировано в некоторых исследованиях. Поэтому на сегодняшний день поиск новых кальциевых зондов остается актуальной задачей.

В кальциевых зондах семейства TnC в качестве кальций связывающего домена используется тропонин С, выделенный из гладкой мускулатуры желчного пузыря рыбы *Orsanustau*. Тропонин С является мышечным белком и не имеет мишеней внутри нейронов.

Для характеристики свойств исследуемых кальциевых зондов были проведены эксперименты по регистрации флуоресцентных ответов нейронов, экспрессирующих GCaMP6s или зонды семейства TnC, в ответ на внутриклеточную индукцию потенциалов действия.

Нами было обнаружено, что Кальциевые зонды семейства TnC обладают более быстрыми кинетическими характеристиками и более высоким динамическим диапазоном по сравнению с GCaMP6s. Экспрессия GCaMP6s в нейронах приводит к увеличению концентрации кальция во время генерации ПД по сравнению с контрольным зондом. Экспрессия GCaMP6s в нейронах приводит к значительным изменениям параметров потенциалов действия в виде увеличения полуширины и ухудшения динамики инициации потенциала действия по сравнению с контрольной группой.

Полученные данные демонстрируют, что кальциевые зонды семейства TnC, в основе которых лежит тропонин, обладают меньшими побочными эффектами по сравнению с GCaMP6s и являются достаточно перспективными зондами для регистрации активности нейронов.

## **ВЫЗВАННАЯ УДАЛЕНИЕМ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЛУКОВИЦ ПОТЕРЯ ФЕНОТИПА КЛЕТКАМИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА МЫШЕЙ МОЖЕТ ИМЕТЬ ОБРАТИМЫЙ ХАРАКТЕР**

*Недогреева О.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной  
деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: [nedogreewaolga@gmail.com](mailto:nedogreewaolga@gmail.com)*

Удаление обонятельных лукович у грызунов (ольфакторная бульбэктомия, ОБ) приводит к обширным морфофункциональным нарушениям, в частности, в холинергической системе переднего мозга. Это позволяет использовать ОБ для моделирования нейродегенеративных процессов и некоторых симптомов депрессии (Borre et al., 2014, Bobkova et al., 2014). Обонятельные луковичи имеют обширные проекции к медиальному септальному ядру (MS) и ядрам диагональной полоски Брока (DBB), образующим холинергический вход в гиппокамп (ГК).

В настоящей работе рассматривается влияние ОБ на число холинергических нейронов медиального септального комплекса (MS+DBB), а также содержание холинацетилтрансферазы (ХАТ), фермента синтеза ацетилхолина, и состояние микроглии в гиппокампе самцов мышей C57Bl/6.

Бульбэктомиию осуществляли путем аспирации под хлоралгидратным наркозом (ОБ, n=39). В качестве контрольной группы использовали ложно оперированных животных (ЛО, n=28).

Через 30 либо 50 сут. после ОБ животных декапитировали, образцы мозга изымали для биохимического (ОБ, n=22, ЛО, n=17) и иммуногистохимического (ОБ, n=17, ЛО, n=11) исследования. Содержание ХАТ в ГК определяли методом Вестерн-блот, число экспрессирующих ХАТ клеток в MS – с помощью иммуногистохимического окрашивания. Число микроглиоцитов в ГК оценивали после специфического окрашивания срезов на маркер микроглии Iba1.

Через 30 сут. после ОБ число ХАТ-позитивных клеток в MS+DBB значительно снизилось на 43%. При этом содержание ХАТ в ГК повысилось вдвое по сравнению с контрольной группой ( $p<0.05$ ). В полиморфном слое зубчатой фасции ГК число микроглиоцитов вышло увеличено вдвое ( $p<0.01$ ), а в stratum oriens поля CA1 – на 28% ( $p<0.05$ ) относительно контрольных животных.

Через 50 сут. после ОБ наблюдали снижение содержания ХАТ в ГК подопытных животных на 56% по сравнению с контролем ( $p<0.05$ ), тогда как число холинергических клеток в MS+DBB не отличалось значимо от ЛО мышей.

Мы предполагаем, что снижение числе холинергических нейронов в MS+DBB через 30 дней после ОБ связано с утратой этими клетками холинергического фенотипа. Это проявляется в уменьшении числа ХАТ-позитивных клеток при отсутствии снижения общего числа нейронов в этом отделе мозга. При этом наблюдается рост содержания ХАТ (по данным вестерн-блоттинга) в отростках холинергических нейронов, образующих проекции в ГК. Полученные в ходе работы результаты позволяют предположить наличие компенсаторного механизма восстановления холинергических клеток после потери фенотипа на раннем сроке

после повреждения. Именно это может объяснить восстановление числа ХАТ-позитивных клеток в MS+DBB через 50 дней после ОБ.

**Список литературы:**

1. Bobkova N.V., Garbuz D.G., Nesterova I., Medvinskaya N., Samokhin A., Alexandrova I., Yashin V., Karpov V., Kukharsky M.S., Ninkina N.N., Smirnov A.A., Nudler E., Evgen'ev M. Therapeutic effect of exogenous hsp70 in mouse models of Alzheimer's disease // J. Alzheimers. Dis. 2014. V. 38. P. 425–435.
2. Borre Y.E., Panagaki T., Koelink P.J., Morgan M.E., Hendriksen H., Garssen J., Kraneveld A.D., Olivier B., Oosting R.S. Neuroprotective and cognitive enhancing effects of a multi-targeted food intervention in an animal model of neurodegeneration and depression // Neuropharmacology. 2014. V. 79. P. 738–749.

## **m<sup>6</sup>A-ЭПИТРАНСКРИПТОМ КУЛЬТУРЫ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫСЫ**

*Новиков Д.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
novikov@ihna.ru*

Нейропластичность обусловлена изменением протеома клетки. Важный уровень регуляции этого изменения представляют собой изменения транскриптома, а с недавних пор выявлено влияние и пост-транскрипционных модификаций РНК (химических модификаций нуклеозидов). Впервые модификации РНК обнаружили в 1957 году, а с 1961 года открывают различные модификации аденозина. На сегодняшний день известно не менее 172 модификаций классических нуклеозидов, встречающихся в клетках. Метилирование аденозина по 6 позиции (m<sup>6</sup>A, N6-метиладенозин) было открыто в 1974 году, и эта модификация РНК представляет особый интерес, так как является самой распространенной у эукариот: например, у млекопитающих m<sup>6</sup>A метилированию подвергаются до половины мРНК и практически все другие типы РНК. Наличие и позиция m<sup>6</sup>A меток оказывает влияние практически на все этапы жизненного цикла молекулы РНК. Несмотря на это, до последнего десятилетия исследование модификаций РНК представляло сложность ввиду отсутствия широкого распространения РНК-секвенирования (RNA-seq). Сейчас РНК-секвенирование в сочетании со специфичными антителами является самым популярным методом исследования эпитранскриптома.

Подобно другим химическим модификациям нуклеозидов, эта модификация вносится, удаляется и считывается специализированными ферментами и выполняет разнообразные биологические функции, участвуя в таких разных процессах как развитие, ход циркадных часов, иммунный ответ, опухолеобразование. Основная часть m<sup>6</sup>A-модификаций вносится метилосомой на этапе транскрипции (в основе комплекс METTL3-METTL14-WTAP), удаление этих меток – ферментами FTO и ALKBH5, среди десятков белков, считывающих их, называют некоторых представителей семейств YTHDF/C, фактор инициации трансляции eIF3, FMRP и др. [1]. С каждым годом растет количество публикаций, демонстрирующих роль модификаций РНК, особенно m<sup>6</sup>A, в норме и патологии [2], а также в нейрофизиологии и поведении, что неудивительно, так как наибольшее количество m<sup>6</sup>A среди клеток разных органов млекопитающих встречается в мозге.

Недавно опубликованные исследования позволяют полагать, что метилирование аденозина в РНК важно для регуляции экспрессии генов в процессах нейрональной пластичности и формирования долговременной памяти [3 и др.]. m<sup>6</sup>A в целом стимулирует трансляцию, и предполагают, что m<sup>6</sup>A-метилирование РНК вблизи активных синапсов позволяет ускорить трансляцию определенных транскриптов, важных для формирования памятного следа в сети нейронов [4, 5]. Рост количества метилированных транскриптов может быть связан с прекращением работы FTO в активных дендритах [6]. Мы выдвигаем гипотезу, что данный механизм может лежать в основе феномена промежуточной памяти (зависимой от трансляции, но не от транскрипции). Время наблюдения этого феномена после обучения (от нескольких минут до нескольких часов) согласуется с временным интервалом эпитранскриптомных изменений в экспериментах [3, 6 и др.].

Для исследования роли m<sup>6</sup>A-метилирования РНК при активации нейронов мы решили провести измерение профиля метилирования РНК в культурах клеток гиппокампа мозга новорожденных крысят (15-16 день *in vitro*) после их стимуляции пикротоксином (антагонист ГАМК<sub>A</sub> рецепторов) в течение 1 часа, а также без стимуляции (получение культуры – Баль Н.В.). Для этого выделенную РНК мы фрагментировали (100-200 н.) инкубированием с ацетатом магния. Мы деплецировали рибосомную РНК (рРНК) с помощью набора NEBNext

rRNA Depletion Kit (NEB). Из части РНК фрагменты, содержащие m<sup>6</sup>A, выделялись с помощью m<sup>6</sup>A-специфичных антител Epimark N6-Methyladenosine Enrichment Kit (NEB). Из фрагментированной РНК создавали кДНК-библиотеки (Колосов П.М., Волобуева М.Н.), которые затем секвенировали на платформе Illumina HiSeq 1500 (Сперанская А.С.).

Разделение ридов и удаление адаптеров производили с помощью bcl2fastq (Белецкий А.П.), контроль качества – FastQC. Детектирование и удаление пар ридов рРНК проводили с помощью BBduk, выравнивание - bowtie2 и STAR. Построение эпитранскриптома было выполнено в программах mbaviewer, macs2 и пакете DMDeerm6A. Для анализа метаболических путей использовался пакет clusterProfiler.

В результате нами был получен эпитранскриптом культуры нейронов гиппокампа крысы (более 11000 m<sup>6</sup>A-пиков). В результате проведенного нами анализа данных секвенирования было подтверждено, что GC-состав у иммунопреципитированных (m<sup>6</sup>A-) ридов выше. m<sup>6</sup>A-пики в основном приходились на кодирующие области транскриптома и 3' UTR; метилирование межгенных областей и, особенно, интронов и 5' UTR невелико (Рис. 1), что согласуется с данными литературы [7]. Анализ метаболических путей показал, что интенсивному m<sup>6</sup>A-метилированию подвергаются транскрипты сигнального пути MAPK, эндоцитоза, аксонального наведения и сигнального пути cAMP (Рис. 2). Предварительный анализ указывает на изменения m<sup>6</sup>A-эпитранскриптома после воздействия пикротоксином.

Автор выражает благодарность Белецкому А.П. за ценные рекомендации по биоинформатическому анализу.

#### **Список цитируемой литературы:**

[1] Widagdo J., Anggono V. The m<sup>6</sup>A epitranscriptomic signature in neurobiology: from neurodevelopment to brain plasticity //Journal of neurochemistry. – 2018.

[2] Kadumuri R. V., Janga S. C. Epitranscriptomic Code and Its Alterations in Human Disease //Trends in molecular medicine. – 2018.

[3] Widagdo J. et al. Experience-dependent accumulation of N<sup>6</sup>-methyladenosine in the prefrontal cortex is associated with memory processes in mice //Journal of Neuroscience. – 2016. – Т. 36. – №. 25. – С. 6771-6777.

[4] Wang X. et al. N<sup>6</sup>-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency //Cell. – 2015. – Т. 161. – №. 6. – С. 1388-1399.

[5] Merkurjev D. et al. Synaptic N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts //Nature neuroscience. – 2018. – С. 1.

[6] Walters B. J. et al. The role of the RNA demethylase FTO (fat mass and obesity-associated) and mRNA methylation in hippocampal memory formation //Neuropsychopharmacology. – 2017. – Т. 42. – №. 7. – С. 1502.

[7] Meyer K. D. et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons //Cell. – 2012. – Т. 149. – №. 7. – С. 1635-1646.

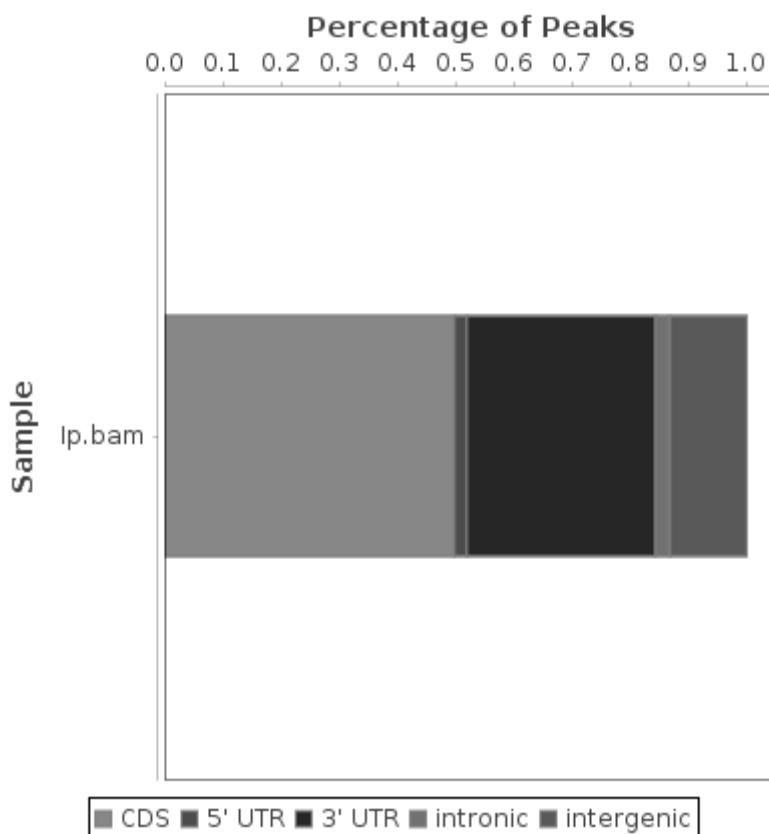


Рис. 1. Распределение м6А-пиков по регионам транскриптома.

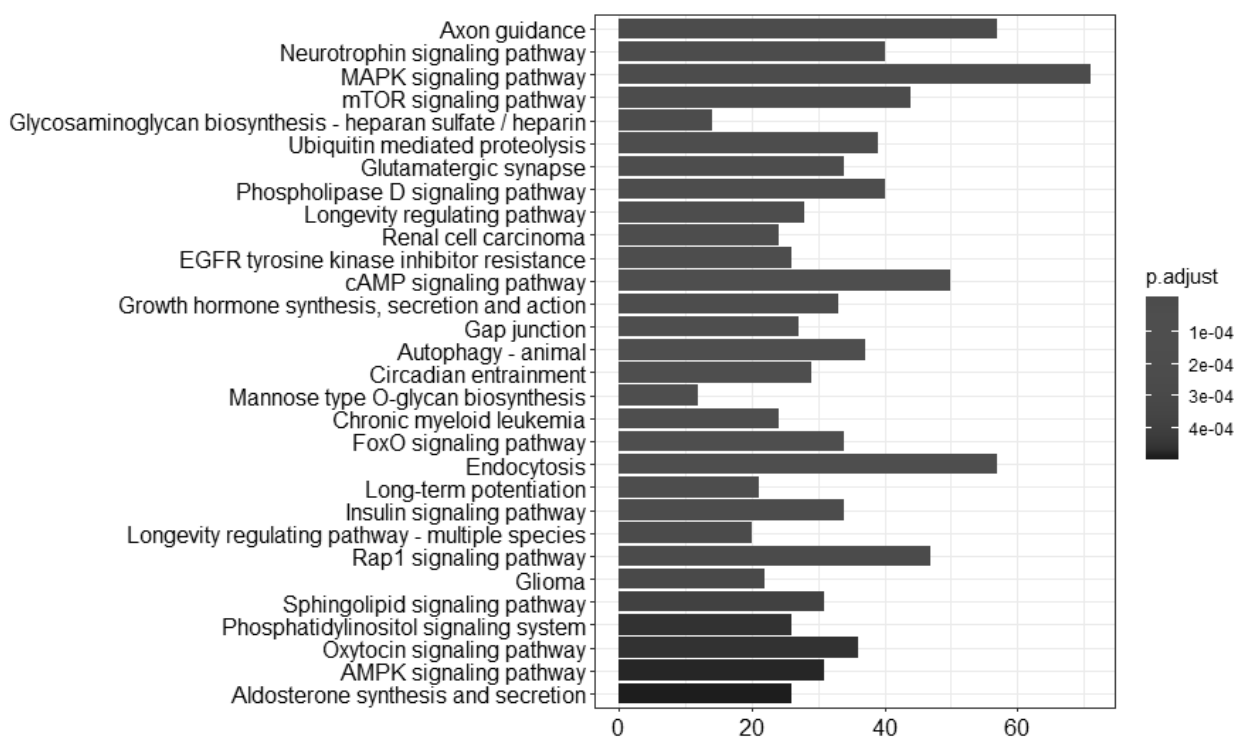


Рис. 2. Метаболические пути, транскрипты которых подвергаются м<sup>6</sup>А-метилированию (KEGG).

## **РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ПЕРЕСТРОЕК ХРОМАТИНА В МЕХАНИЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТИ И ПАМЯТИ**

*Бородинова А.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук*

Одной из основных задач современной нейробиологии является изучение механизмов, лежащих в основе долговременного хранения информации клетками нервной системы. Экспериментальные данные последних лет подчеркивают важность процессов протекающих в ядре клетки для реорганизации нейрональной сети и развития адекватного поведенческого ответа на внешние стимулы. Обучение сопряжено с изменением активности определенных генов-регуляторов памяти в определенных регионах мозга, что может приводить к локальным изменениям функциональных синаптических характеристик нейронов и, по-видимому, изменению роли отдельных нейронов в сети. Тонкая модуляция работы генома при реализации механизмов памяти достигается, в том числе, посредством локус-специфических изменений эпигенома (посттрансляционные модификации гистонов и метилирование ДНК). Несмотря на то, что роль эпигенетики в механизмах пластичности и памяти была убедительно показана в многочисленных *in vivo* экспериментах, не совсем понятно, каким образом в сети нейронов в ответ на строго определенный набор внешних стимулов происходит запуск определенных молекулярных программ. В докладе будет дано краткое описание эпигенетических перестроек хроматина, их роль в реализации поведенческих программ при обучении, современные подходы для эпигенетического контроля активности отдельных генов, вовлеченных в механизмы пластичности и патологий.



## НАРУШЕНИЯ ЭПИЗОДИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ ПРИ АБСАНС-ЭПИЛЕПСИИ ЯВЛЯЕТСЯ СЛЕДСТВИЕМ Пониженной ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ МОТИВАЦИИ

Федосова Е.А., Шацкова А.Б., Саркисова К.Ю.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук*  
e-mail: [ekaterina5fedosova@rambler.ru](mailto:ekaterina5fedosova@rambler.ru)

Депрессия и когнитивные нарушения — наиболее распространённые коморбидные расстройства при конвульсивной эпилепсии [1]. Неконвульсивную абсанс-эпилепсию долгое время считали лёгкой формой эпилепсии, лишённой каких-либо коморбидностей. Однако впоследствии было обнаружено, что депрессия сопутствует также и абсанс-эпилепсии, что было показано как у экспериментальной модели этого заболевания — у крыс линии WAG/Rij [2, 3], так и у пациентов с абсанс-эпилепсией [4]. Вопрос о том, имеются ли когнитивные нарушения при абсанс-эпилепсии остается в значительной мере неизученным. Имеющиеся в литературе данные единичны и противоречивы. В нашей предыдущей работе было показано, что у крыс линии WAG/Rij наблюдаются зависимые от возраста нарушения когнитивных функций, в том числе эпизодической памяти [5]. Цель настоящей работы — проверить предположение о том, что нарушения эпизодической памяти у крыс линии WAG/Rij могут быть следствием пониженной исследовательской мотивации — одного из симптомов депрессии. Для достижения этой цели изучали эпизодическую память и исследовательскую мотивацию в тестах распознавания нового объекта (РНО) и социального распознавания (СР). Оба теста основаны на врождённом для грызунов предпочтении новизны: более длительное исследование нового объекта, чем знакомого [5]. Протоколы теста СР и РНО были одинаковыми, отличия были только в природе объектов. В тесте РНО это были неодушевлённые предметы (геометрические фигуры различной формы и цвета), а в тесте СР — крысы — самцы 21-дневного возраста. Тест РНО у крыс линии WAG/Rij и Wistar проводили в возрасте 2-х месяцев, когда симптомы absence-эпилепсии и коморбидной депрессии отчетливо не проявляются, а также в возрасте 6 месяцев, когда патологический фенотип полностью выражен. Эпизодическую память оценивали по индексу распознавания нового объекта, исследовательскую мотивацию — по числу вертикальных стоек без опоры и выходов в центр арены. Результаты показали, что в возрасте 2-х месяцев индекс распознавания нового объекта у крыс линии WAG/Rij значимо не отличается, а в возрасте 6 месяцев он значимо меньше аналогичного показателя у крыс Wistar. Крысы линии WAG/Rij проявляли пониженную исследовательскую мотивацию по сравнению с крысами Wistar только в возрасте 6 месяцев. Обнаружена положительная корреляция между индексом распознавания нового объекта и обоими показателями исследовательской мотивации ( $r=0.8$ ,  $p<0.05$ ). С целью подавления симптомов абсанс-эпилепсии коморбидной депрессии крысам линии WAG/Rij в возрасте 6 месяцев за 14 дней до теста РНО вводили это суксимид (300 мг/кг, в/б). Антиабсансный препарат это суксимид не только подавлял пик-волновую активность, но и повышал исследовательскую мотивацию, а также улучшал эпизодическую память у крыс линии WAG/Rij. В тесте СР у крыс линии WAG/Rij и Wistar эпизодическую память оценивали по индексу социального распознавания, исследовательскую активность — по длительности

исследования знакомого и незнакомого конспецифика. В тесте СР, как и в тесте РНО, у крыс линии WAG/Rij индекс распознавания был значимо меньше по сравнению с крысами Wistar. Кроме того, крысы линии WAG/Rij проявляли также пониженную исследовательскую мотивацию: меньше длительность исследования знакомого и незнакомого конспецифика, а также больше число реакций социального избегания по сравнению с крысами Wistar. Результаты свидетельствуют о том, что нарушения эпизодической памяти в тесте РНО и СР являются следствием пониженной исследовательской мотивации как одного из симптомов депрессии, коморбидной абсанс-эпилепсии.

#### **Список литературы:**

- [1] Kanner AM. Psychiatric comorbidities in epilepsy: Should they be considered in the classification of epileptic disorders? 2016. *Epilepsy Behav.* 64 (Pt B): 306-8.
- [2] Sarkisova KY, Midzianovskaia IS, Kulikov MA. Depressive-like behavioral alterations and c-fos expression in the dopaminergic brain regions in WAG/Rij rats with genetic absence epilepsy. 2003. *Behav Brain Res.* 144(1-2):211-26.
- [3] Sarkisova K, van Luijtelea G. The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression. 2011. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 35(4): 854-76.
- [4] Barnes GN, Paolicchi JM. Neuropsychiatric comorbidities in childhood absence epilepsy. 2008. *Nat Clin Pract Neurol.* 4 (12): 650-1.
- [5] Leo A, Citraro R, Tallarico M, Iannone M, Fedosova E, Nesci V, De Sarro G, Sarkisova K, Russo E. Cognitive impairment in the WAG/Rij rat absence model is secondary to absence seizures and depressive-like behavior. 2019. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 94:109652.

# АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СИГНАЛА ОТ ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА В НАРКОЗЕ: КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

*Канцера А.О.<sup>1,2</sup>*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук<sup>1</sup>  
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова<sup>2</sup>  
e-mail: [anna.kantserova@gmail.com](mailto:anna.kantserova@gmail.com)*

Участие коры больших полушарий в восприятии информации, восстановлении и поддержании сознания не ставится под сомнение, однако в научной литературе широко обсуждается вопрос о роли в этих процессах низлежащих структур мозга (Merker, 2007). В Институте нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко была разработана методика, позволяющая регистрировать потенциалы ближнего поля (англ.: local field potential, LFP) от неповреждённых структур ствола мозга в постоперационном периоде у пациентов с опухолями мозга (Pitskhelauri, 2009).

Целью работы было проанализировать ЭЭГ, записанную одновременно от продолговатого мозга и со скальпа и выявить взаимоотношения продолговатого мозга и коры во время наркоза.

Дренаж-электрод был имплантирован оперирующим нейрохирургом на завершающей стадии оперативного лечения опухоли пинеальной области для профилактики постоперационной гидроцефалии. Пациент проходил плановое лечение в Институте нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко. Этическое одобрение регистрации биопотенциалов из ствола мозга при помощи дренаж-электрода было получено от этического комитета Института. Пациент перед операцией дал добровольное информированное согласие на участие в исследовании биопотенциалов мозга. Регистрация биоэлектрической активности началась сразу после постановки дренажа и продолжалась в течение следующих суток. Из-за индивидуальных особенностей пациента, диаметр водопровода мозга оказался больше диаметра дренажа, вследствие чего дренаж изначально был поставлен в центральный канал немного ниже четвёртого желудочка. Запись электрического сигнала от продолговатого мозга длиной 3 минуты была получена во время очереди на компьютерную томографию. Сразу после компьютерной томографии дренаж-электрод был переставлен в водопровод мозга. В данном исследовании представлены данные анализа биопотенциалов, зарегистрированных одновременно с продолговатого мозга и скальповых электродов в состоянии наркоза сразу после операции.

Слуховые вызванные потенциалы были зарегистрированы с использованием двухстимульной методики необычности стимула – odd ball paradigm. Звуковая последовательность состояла из 100 стимулов и включала стандартный (80% 800 Гц и 80 мс) и целевой (20%, 600 Гц и 80 мс) тоны.

Для вычисления направленных взаимосвязей сигналов, зарегистрированных от двух глубинных электродов, использовался метод причинности по Грейнджеру в программе «Brainstorm» (MATLAB). Для этого разделили имеющуюся запись на отрезки длиной 10 с, и вычислили направление и силу связи между двумя глубинными электродами в каждом из них. Также для каждого отрезка записи был вычислен амплитудно-частотный спектр. Далее проводились усреднение полученных параметров по всей записи и оценка статистической достоверности полученных результатов.

У пациента в состоянии наркоза все выявленные направленные связи отражали восходящий поток нервных импульсов, причём направленная взаимосвязь от нижнего электрода к верхнему была выявлена в 90% отрезков записи. Также был отмечен пик амплитуды сигналов с электродов, расположенных в продолговатом мозге, на частоте 80 Гц.

На этой частоте амплитуда сигнала с верхнего электрода, который предположительно находился на уровне тонкого и клиновидного бугорков, в два раза превышала амплитуду с нижнего, вероятно располагавшегося на уровне тонкого и клиновидного пучков. На протяжении всего остального спектра сигнал с менее глубокого электрода по амплитуде также превышал сигнал с более глубокого. Слуховые вызванные потенциалы от продолговатого мозга и на целевой тон, и на стандартный по амплитуде были сравнимы с шумом.

Таким образом, в работе было показано наличие восходящих направленных связей из продолговатого мозга в состоянии наркоза. Выявлена прямо пропорциональная зависимость амплитуды сигнала от высоты расположения электродов в продолговатом мозге.

**Список цитируемой литературы:**

- 1) Merker В., Consciousness without a cerebral cortex: a challenge for neuroscience and medicine. *Behav Brain Sci*, 2007; 30(1): 63-81; discussion 81-134.
- 2) PitskhelauriDI., KonovalovAN., KornienkoVN., SerovaNK., ArutiunovNV., KopachevDN. Intraoperative direct third ventriculostomy and aqueductal stenting in deep-seated midline brain tumors surgery. *Neurosurgery*, 2009; 64: 256-267.

## РАЗРАБОТКА МОДИФИЦИРОВАННОГО ВАРИАНТА ЭЗОПОВА ТЕСТА

*Диффинэ Е.А., Смирнова А.А.*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
e-mail: diffinenok@gmail.com*

При помощи Эзопова теста [1] оценивают способность детей или животных добыть приманку, плавающую на поверхности воды в узком цилиндре вне пределов досягаемости (решением теста является поднятие уровня воды путем, помещения в цилиндр тонущих объектов). Результаты этого теста могут позволить выяснить, есть ли у испытуемого представление о свойстве тонущих объектов поднимать уровень воды и способен ли он к орудийной деятельности. В случае отрицательного результата Эзопова теста возникает вопрос, можно ли научить субъекта решению этой задачи, и чему именно он обучается – конкретному инструментальному навыку (бросанию камня в цилиндр для получения приманки) или же, в процессе обучения он усваивает свойство тонущих объектов поднимать уровень воды. Для оценки механизма решения Эзопова теста его усложняют: например, дают субъекту выбрать в какой цилиндр бросить камень - в заполненный водой или в заполненный песком.

Среди животных с подобными задачами справляются только представители видов с высокоорганизованным мозгом: шимпанзе и орангутаны [2], а также врановые птицы - грачи [3], галки [4], новокаледонские вороны [5]. Метаанализ полученных ранее наврановых птицах данных обнаружил, что в большинстве случаев они решают эту задачу не путем инсайта, а скорее быстро обучаются ее решению путем проб и ошибок в ходе самого теста [6,7]. Кроме того, есть мнение, что на положительный результат Эзопова теста могут влиять контекстные подсказки и предпочтение определенных объектов, ранее ассоциированных с получением подкрепления [1, 5].

Поскольку существующая методика проведения Эзопова теста не дает однозначного ответа на вопрос о механизме его решения (о возможности его решения путем инсайта) мы разрабатываем и испытываем на серых воронах такую модификацию этого теста, в которой влияние приведенных выше факторов (обучения в ходе тестирования, контекстных подсказок и предпочтения определенных объектов) можно будет контролировать и попытаться свести к минимуму. Подобная модификация теста позволит применить его для широкого сравнительного исследования степени развития наглядно-действенного мышления животных, а также изучения закономерностей процесса формирования у них представлений о физических свойствах объектов окружающего мира.

Первой задачей нашего исследования было выяснить, могут ли вороны самостоятельно (без какого-либо обучения) справиться с Эзоповым тестом. Вначале мы дали возможность восьми воронам ознакомиться со свойствами объектов, являющихся компонентами экспериментальной задачи. Для этого на стенке жилого вольера на один месяц были закреплены пять прозрачных пластиковых цилиндров: один пустой, два - с водой и еще два – с песком (и водой, и песком один сосуд будет заполнен на одну треть, а второй был почти полный). Приманки не было ни в одном из них. Перед цилиндрами был размещен поддон с камнями и кусочками пробки. За весь этот период куски пробки были обнаружены в цилиндрах лишь 4 раза. Затем с каждой из восьми ворон были проведены пять ознакомительных сессий в экспериментальной клетке (по 15 минут каждая). К передней длинной стенке экспериментальной клетки (120 x 45 x 50 см) были прикреплены те же пять цилиндров, а около противоположной стенки был размещен поддон с большими и маленькими камнями и кусочками пробки. Приманки в цилиндрах не было. Была произведена видеозапись поведения птиц. Некоторые вороны манипулировали с камнями и пробками, однако ни одна из них не поместила ни один объект в цилиндры.

После завершения ознакомительной серии со всеми воронами был проведен первый

Эзопов тест, включающий три тестовые сессии по 15 минут каждая. Тестовые сессии отличались от ознакомительных, во-первых, наличием приманки в каждом цилиндре (личинки мучного хрущака, привязанной к кусочку пробки), а во-вторых, тем, что два цилиндра были наполнены водой и песком не доверху, а до уровня, который был на полсантиметра ниже доступного воронам. Результат теста оказался отрицательным - ни одна из ворон не поместила ни один объект ни в один из цилиндров. Таким образом, результаты первой тестовой серии не обнаружили у серых ворон ни склонности помещать несъедобные объекты в цилиндры, ни способности самостоятельно сформировать представления о свойстве тонущих объектов поднимать уровень воды, налитой в узкие емкости.

Далее с четырьмя воронами был проведен упрощенный вариант Эзопова теста одним цилиндром с водой и камнями. При такой организации теста его успешное решение могло бы быть обусловлено контекстными подсказками, однако воронам их оказалось не достаточно: ни одна из четырех птиц не поместила камень в цилиндр.

В настоящее время мы обучаем этих четырех ворон бросать камень и добывать приманку из цилиндра заполненного водой до уровня, который на полсантиметра ниже доступного воронам. Для этого сначала мы помещали камень на дополнительную насадку на верхнем крае цилиндра, а затем постепенно перемещали насадку с камнем вниз. Обучение будет считаться законченным после того, как каждая ворона поднимет камень с пола и бросит его в цилиндр не менее пяти раз подряд. После этого, перед проведением второго Эзопова теста будет проведена корректирующая серия, в результате проведения которой получение корма будет ассоциировано не только с тем типом цилиндра (заполненным водой на  $\frac{3}{4}$ ), который использовали в ходе обучения инструментальному навыку, но и с остальными четырьмя, которые будут задействованы в Эзоповом тесте (пустым; с песком на  $\frac{3}{4}$ ; с песком на  $\frac{1}{4}$ ; с водой на  $\frac{1}{4}$ ), а также не только с камнями, но и с кусочками пробки. Кроме того, проведение этой серии даст птицам возможность ознакомиться со свойствами цилиндров, заполненных песком или только воздухом, а также плавучих объектов (кусков пробки).

### **Список литературы:**

1. Jelbert S.A., Taylor A.H., Gray R.D. Investigating animal cognition with the Aesop's Fable paradigm: Current understanding and future directions. *Commun. Integr. Biol.* 2015. 8(4):e1035846.
2. Hanus D., Mendes N., Tennie C., Call J. Comparing the Performances of Apes (*Gorilla gorilla*, *Pan troglodytes*, *Pongo pygmaeus*) and Human Children (*Homo sapiens*) in the Floating Peanut Task. *Plos One.* 2011. 6: e19555.
3. Bird C.D., Emery N.J. Rooks use stones to raise the water level to reach a floating worm. *Curr. Biol.*, 2009. 19. 1410–1414.
4. Cheke L.G., Bird C.D., Clayton N.S. Tool-use and instrumental learning in the Eurasian jay (*Garrulus glandarius*). *Anim Cogn.* 2011. 14(3). 441-455.
5. Miller R., Jelbert S.A., Taylor A.H., Cheke L.G., Gray R.D., Loissel E., Clayton N.S. Performance in object choice Aesop's Fable Tasks are influenced by object biases in New Caledonian crows but not in human children. *PLoS ONE.* 2016. 11: e0168056.
6. Ghirlanda S. Lind J. 'Aesop's fable' experiments demonstrate trial-and-error learning in birds, but no causal understanding. *Animal Behaviour.* 2017. 123. 239-247.
7. Hennefield L., Hwang H.G., Weston S.J., Povinelli D.J. Meta-analytic techniques reveal that corvid causal reasoning in the Aesop's Fable paradigm is driven by trial-and-error learning. *Animal Cognition.* 2018.

## ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ВО ВЛИЯНИИ РАННЕГО ПРОВСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ОБОРОНИТЕЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ВЗРОСЛЫХ КРЫС

***Брошевицкая Н.Д., Павлова И.В., Зайченко М.И., Григорьян Г.А.,  
Онуфриев М.В., Моисеева Ю.***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
[multibroshka@mail.ru](mailto:multibroshka@mail.ru)*

В настоящее время актуально изучение закономерностей формирования индивидуально-групповых особенностей поведения животных, например, таких как повышенная или пониженная тревожность, доминирование активной или пассивной оборонительной стратегии поведения. Известно, что провоспалительный стресс, перенесенный в раннем постнатальном периоде, вызывает нарушения устойчивости к стрессу и приводит к повышению уровня тревожности и депрессивно-подобному поведению. Однако остается неясным, какой эффект ранний провоспалительный стресс оказывает на формирование оборонительной стратегии поведения и различается ли его влияние на животных разного пола.

Целью нашей работы было изучение влияния раннего провоспалительного стресса на выработку активных и пассивных форм оборонительных рефлексов у взрослых крыс разного пола. В задачи работы входил анализ влияния провоспалительного стресса на выработку и угашение классического условного оборонительного рефлекса на звук (УОР, fear conditioning), на выработку и угашение условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), выработку условного рефлекса активного избегания (УРАИ), а также на пороги болевой чувствительности и биохимические показатели сыворотки крови. Опыты проводили на 120 крысах Вистар (61 самце и 59 самках). Провоспалительный стресс вызывали путем подкожного введения бактериального липополисахарида (ЛПС) крысам на третий и пятый постнатальные дни в дозе 50 мкг/кг. ЛПС вводили 33 животным (группа ЛПС), 48 – физиологический раствор (группа Ф, контроль 1), 39 крыс оставались интактными (группа И, контроль 2). Группы крыс делили на подгруппы в зависимости от пола крыс. Эксперименты с животными начинались, когда крысы были в возрасте 3 месяцев. При статистической обработке результатов использовали программу STATISTICA8.0 (Factorial ANOVA, Repeated measures ANOVA).

При тестировании УОР через 24 часа после выработки (Тест 1) самцы из группы ЛПС демонстрировали больший процент времени замирания на контекст по сравнению с самцами контрольных групп, а время замирания на звуковой стимул между группами не отличалось (рис. 1, Б). У самок в Тесте 1 различий по уровню замирания между разными группами крыс не было обнаружено. После двух сеансов угашения УОР (Тест 2) у самцов группы ЛПС время замирания было больше, чем у самцов контрольных групп (рис. 1, А, В). У самок из группы ЛПС время замирания после угашения было, наоборот, меньше, чем у самок контрольных групп, причем различие наблюдалось как в ответ на сигнальный раздражитель, так и на контекст. Оценка порогов болевой чувствительности не выявила влияния ЛПС у крыс обоих полов. Таким образом, у самцов группы ЛПС проявление условно-рефлекторного страха в ответ на обстановку камеры, но не на сигнал, было больше, а угашение рефлекса затруднено по сравнению с контрольными крысами. У самок ЛПС группы проявление страха не отличалось от контрольных крыс, а угашение рефлекса проходило быстрее, чем у контрольных групп.

Большинство животных всех групп успешно выработали УРПИ. При этом у самцов ЛПС группы условно-рефлекторный страх после обучения проявлялся в большей степени, а угашение рефлекса было затруднено по сравнению с самцами контрольных групп. За все

время угашения (7 дней) 90% самцов группы ЛПС ни разу не зашли в темный отсек против 44% (группа И) и 50% (группа Ф). У самок введение ЛПС существенно не повлияло на выработку и угашение УРАИ.

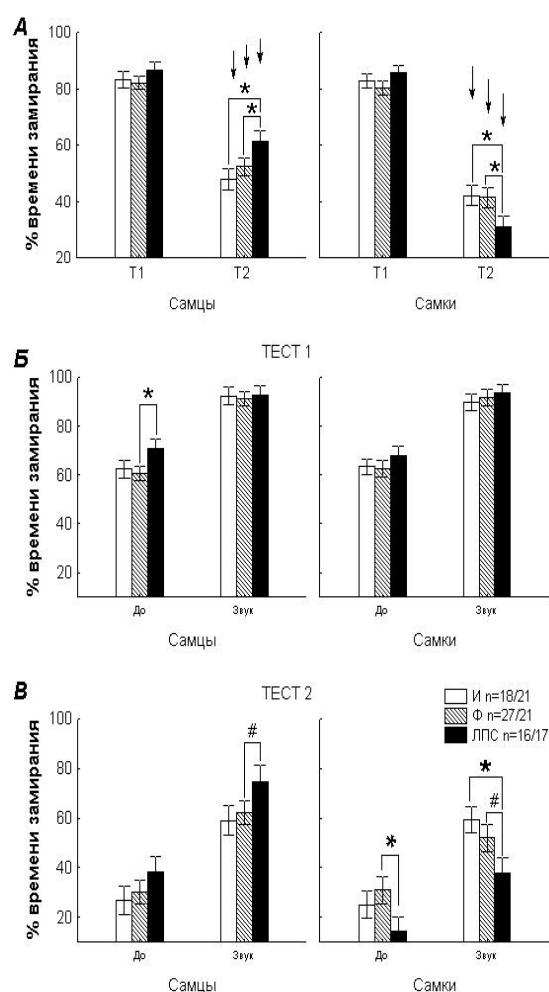
При выработке УРАИ самцы и самки группы ЛПС демонстрировали большую латентность перехода между отсеками, чем животные группы Ф и И. В группах ЛПС и И у самок латентные периоды переходов были меньше, чем у самцов. Таким образом, введение ЛПС в раннем возрасте затрудняло выработку УРАИ у самцов и самок.

Иммуноферментный анализ сыворотки крови, проведенный после стрессорного воздействия в возрасте 6 мес, показал, что у самцов группы ЛПС был повышенный уровень провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  по сравнению с контрольными группами самцов. У самок группы ЛПС уровень кортикостерона был выше, чем у контрольных групп самок и всех самцов.

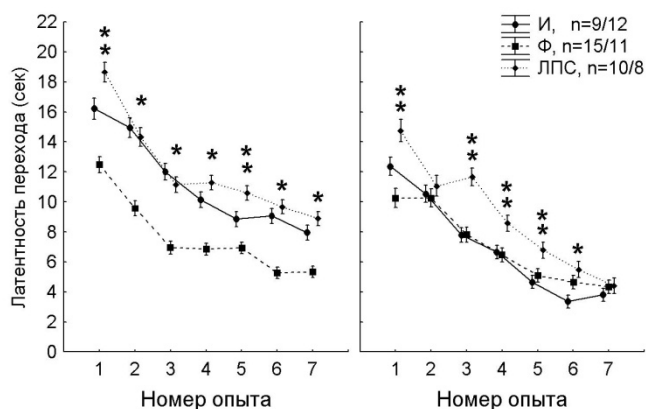
Полученные результаты свидетельствуют о том, что ранний провоспалительный стресс у самцов приводил к большему проявлению и длительному угашению пассивных форм условных оборонительных рефлексов, затрудняя выработку активных форм оборонительных рефлексов. Самки были более устойчивы к раннему провоспалительному стрессу, влияние ЛПС проявлялось только при выработке активного избегания.

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 19-015-00129А и № 19-34-90022\19 «Аспиранты»).*

**Рис. 1.** (слева) Эффект введения ЛПС на проявление и угашение условнорефлекторного страха. **А** – сопоставление теста 1 и 2, **Б** – тест 1 (после обучения), **В** – тест 2 (после угашения) И – группа И; Ф – группа Ф; ЛПС – группа ЛПС; ↓ – снижение процента времени замирания в тесте 2 по сравнению с тестом 1; \* – значимые отличия группы ЛПС от группы И или Ф ( $p < 0,05$ ), # – тенденция ( $0,1 \geq p \geq 0,05$ ). n – число крыс в группе.



**Рис. 2.** (снизу) Эффект введения ЛПС на латентность перехода у самцов и самок во время выработки УРАИ; И – группа И; Ф – группа Ф; ЛПС – группа; \* – значимые отличия группы ЛПС от группы И или Ф ( $p < 0,05$ ). n – число крыс в группе.





## КОРТИКОСТЕРОИД - ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ В РАЗВИТИИ ПОСТИНСУЛЬТНОЙ ДЕПРЕССИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

***Касаткина М.Ю.<sup>1,2</sup> Квичанский А.А.<sup>1</sup> Третьякова Л.В.<sup>1</sup>***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук<sup>1</sup>  
Научно-практический психоневрологический центр им З.П. Соловьева<sup>2</sup>  
e-mail: [m.u.kasatkina@gmail.com](mailto:m.u.kasatkina@gmail.com)*

Депрессия – это самое распространённое психоневрологическое заболевание. Оно является одним из наиболее частых осложнений после инсульта. Постинсультная депрессия приводит к увеличению срока госпитализации, к более тяжёлой функциональной инвалидизации [4], к нарушениям в психо - социальной и когнитивной сферах жизни, а также к высокому риску повторного инсульта через 1 год [5].

Постинсультная депрессия хорошо описана, но методы её ранней диагностики не разработаны. В связи с этим актуальной является задача поиска патогенетически значимых биомаркёров для диагностики постинсультной депрессии на ранних стадиях. При этом, ключевой задачей является изучение механизмов патогенеза данного заболевания. Известно, что депрессивные расстройства ассоциированы с нарушениями функционирования гиппокампа. Была предложена гипотеза об участии дистантного повреждения гиппокампа в развитии постинсультных депрессивных расстройств [1]. Предполагается, что повреждения гиппокампа вызываются избыточной активацией нейроэндокринной гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО) и гиперсекрецией глюкокортикоидов (кортизола/кортикостерона) [3]. Глюкокортикоиды связываются с глюкокортикоидными (ГР) и минералокортикоидными рецепторами (МР), плотность которых наиболее высока в гиппокампе [2] и которые, как предполагается, играют одну из основных ролей в механизме дистантного повреждения гиппокампа и нарушении обратной отрицательной связи ГГНО. Избыток глюкокортикоидов запускает реакцию нейровоспаления в гиппокампе, что в дальнейшем может привести к нарушению функционирования нейронов и нейродегенерации [1].

Исследования в эксперименте и клинике проводятся параллельно и поэтапно. На данном этапе экспериментальная часть исследования включала в себя моделирование односторонней окклюзии средней мозговой артерии с реперфузией (МСаО), оценку неврологического дефицита животных, анализ экспрессии генов и определение количества белков (кортикостерона, провоспалительных цитокинов, а также ГР и МР) в гиппокампе. Животные (64 крысы-самца линии Вистар) были разделены на группы ложнооперированных и с фокальной ишемией (МСаО). Через 1, 3, 7, 14 суток крыс умерщвляли с помощью декапитации и выделяли из головного мозга гиппокампы. Гиппокампы делили на ипси- и контралатеральные повреждению дорсальную и вентральную части. Биоматериал был гомогенизирован, выделена РНК, и часть гомогената была использована для количественного определения белков с помощью ИФА. Полученная РНК была обработана ДНКазой и проведена обратная транскрипция. Последующая ПЦР в реальном времени проводилась с использованием интеркалирующего красителя SYBRGREEN в соответствии с инструкцией фирмы изготовителя. Обработка первичных данных осуществлялась при помощи программы CFXManager (BioRad). Эндогенными контрольными генами являлись *Hprt* и *Ywhaz*. Дополнительно исследовали уровень кортикостерона и цитокинов в крови.

Клиническая часть исследования заключалась в анализе биологического материала пациентов после ишемического инсульта. К данному моменту нами была собрана кровь и слюна у 12 пациентов на первые сутки, а также через 1 месяц после инсульта. В дальнейшем группа больных будет расширена, а биоматериал будет собран также через 6, 12 и 18 месяцев.

В сыворотке крови было определено содержание Пб и кортизола; в слюне – кортизола и альфа амилазы. Через месяц после инсульта был проведен стресс тест. До его проведения и через 10, 20, 30 и 40 минут после него у пациентов брали слюну на биохимический анализ.

В экспериментальной части исследования были получены данные по экспрессии 9 генов: двух генов эндогенного контроля (*Hprt* и *Ywhaz*), гены, кодирующие ГР, МР фракталин и его рецептор CX3CR1, а также гены провоспалительных цитокинов (*Tnf*, *Il1b*, *Il6*). Была обнаружена сходная направленность изменений в экспрессии гена *Tnf* и содержания соответствующего белка в ткани гиппокампа. Экспрессия этого гена, также как и гена, кодирующего *Il-1b*, статистически значимо отличалась между контралатеральным дорсальным и вентральным гиппокампом. Экспрессия *Il1b* статистически значимо уменьшалась в контралатеральном дорсальном гиппокампе на третьи сутки по сравнению с первыми, и статистически значимо увеличивалась на 14 сутки по сравнению с 7-ми. У всех крыс (как у ложнооперированных, так и с МСАО) были обнаружены статистически значимые изменения в экспрессии генов, кодирующих МР и ГР, в различных регионах гиппокампа: между вентральным и дорсальным, а также между ипси- и контралатеральным. Медианное значение экспрессии этих рецепторов было наибольшим в контралатеральном дорсальном гиппокампе, а наименьшим в ипсилатеральном вентральном гиппокампе, что частично совпадает с данными по содержанию кортикостерона в гиппокампе этих крыс.

В рамках клинического исследования у пациентов после стресс теста получены предварительные данные по изменению показателей, отражающих активность ГНО, симпато-адреналовой системы и воспаление, которые будут уточнены после завершения набора групп.

На данном этапе исследования наши данные показывают постинсультные изменения в экспрессии генов, кодирующих МР и ГР, а также генов *Tnf*, *Il1b* в гиппокампе в зависимости от его области и от времени прошедшего с момента инсульта. Дальнейшие исследования необходимы для конкретизации изменений в мозге крыс и обнаружения подобных закономерностей в биоматериале человека.

#### **Список цитируемой литературы:**

1. Gulyaeva, N. V. Functional Neurochemistry of the Ventral and Dorsal Hippocampus: Stress, Depression, Dementia and Remote Hippocampal Damage. / N. V. Gulyaeva // *Neurochem. Res.* – 2019. – Т. 44 – № 6 – 1306–1322с.
2. Joëls, M. Corticosteroid actions in the hippocampus / M. Joëls // *J. Neuroendocrinol.* – 2001. – Т. 13 – № 8 – 657–669с.
3. Menke, A. Is the HPA axis as target for depression outdated, or is there a new hope? / A. Menke // *Front. Psychiatry* – 2019. – Т. 10 – № FEB – 1–8с.
4. Towfighi, A. Poststroke Depression: A Scientific Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association/American Stroke Association / A. Towfighi, B. Ovbiagele, N. El Husseini, M. L. Hackett, R. E. Jorge, B. M. Kissela, P. H. Mitchell, L. E. Skolarus, M. A. Whooley, L. S. Williams // *Stroke* – 2017. – Т. 48 – № 2 – e30–e43с.
5. Yuan, H.W. Poststroke Depression and Risk of Recurrent Stroke at 1 Year in a Chinese Cohort Study / H. W. Yuan, C. X. Wang, N. Zhang, Y. Bai, Y. Z. Shi, Y. Zhou, Y. L. Wang, T. Zhang, J. Zhou, X. Yu, X. Y. Sun, Z. R. Liu, X. Q. Zhao, Y. J. Wang // *PLoS One* – 2012. – Т. 7 – № 10 – e46906с.

## СЕЛЕКТИВНАЯ СУПРЕССИЯ ТРЕТЬЕЙ СТАДИИ СНА ВЛИЯЕТ НА СЕКРЕЦИЮ МЕЛАТОНИНА И ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТЬ РОЛЬ АРХИТЕКТУРЫ СНА

*Левкович К.М.<sup>1</sup>, Салтыков К.А.<sup>1</sup>, Белов Д.А.<sup>2</sup>, Нижник А.Н.<sup>2</sup>, Украинцева Ю.В.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук<sup>1</sup>  
Клиника новых медицинских технологий АрхМед<sup>2</sup>  
e-mail: kliaukovich@ihna.ru*

В ряде работ было показано, что сон важен для регуляции чувствительности тканей к инсулину, и его недостаток приводит к расстройству углеводного обмена. Однако конкретные механизмы нарушения метаболизма глюкозы вследствие недостаточного или некачественного сна изучены мало. Ранее мы показали, что подавление самой глубокой, третьей, стадии ночного сна приводит к повышению утреннего уровня мелатонина [1]. Поскольку мелатонин участвует в контроле суточных колебаний чувствительности тканей к инсулину, можно предположить, что изменения его секреции могут являться одним из звеньев механизма снижения глюкозотолерантности при расстройствах сна. Однако связь между особенностями структуры ночного сна и выделением мелатонина до сих пор недостаточно изучена. Известно, что глубокий сон особенно важен для гомеостаза, поэтому мы поставили своей целью изучение влияния селективной супрессии третьей стадии сна на толерантность к глюкозе у здоровых молодых людей, а также оценку изменений секреции мелатонина и их роли в сдвигах глюкозотолерантности вследствие нарушений сна.

В экспериментах приняли участие 20 мужчин. Во время сна регистрировалась полисомнограмма, по ней отслеживали фазы и стадии сна, в экспериментах с супрессией при наступлении третьей стадии подавали звуки до тех пор, пока она не сменялась более поверхностным сном. Каждый доброволец участвовал в двух экспериментах: в основном, с селективной супрессией третьей стадии, и в контрольном, в котором сон не нарушался. В каждом эксперименте собирали 7 проб слюны: вечером (в 20:00, 21:30 и 23:00), ночью (в 1:30 и 4:00) и утром (в 7:00, сразу после пробуждения, и в 7:40). В пробах определяли содержание мелатонина методом тандемной хромато-масс-спектрометрии (LC-MS/MS). Утром проводился пероральный глюкозотолерантный тест (ГТТ).

Супрессия привела к снижению общей длительности третьей стадии на 55%, не оказав значимого влияния на общее время ночного сна и его эффективность. Индивидуальные реакции на ГТТ оказались различными: в 1 группе (11 человек) уже в контрольном эксперименте была отмечена пониженная глюкозотолерантность, и она ещё больше снизилась после ночи с супрессией третьей стадии сна. У 2 группы (9 человек) отмечалась высокая глюкозотолерантность в обоих экспериментах. Супрессия третьей стадии сна привела к повышению концентрации мелатонина в слюне. Но если у 2 группы мелатонин повысился в первой половине ночи, то у 1 группы повышенный мелатонин выявлен в момент пробуждения. В обеих группах оказалась сопоставимая продолжительность третьей стадии, но при этом они значительно различались по ряду других показателей архитектуры сна: в обоих экспериментах, 1 группа характеризовалась более коротким общим временем сна и меньшим количеством парадоксального сна. Во время супрессии третьей стадии их сон сильнее нарушался, чем сон 2 группы: они дольше находились в первой стадии, и их ночные пробуждения были более продолжительными. Разделив ночь на 3 периода в соответствии со временем взятия проб слюны: ранний период ночи (23:00-01:30), средний период ночи (01:30-04:00) и поздний период ночи (04:00-07:00), мы обнаружили у 2 группы более поляризованную архитектуру сна, чем у первой, с выраженным преобладанием третьей стадии в основном в ранний период ночи, а парадоксального сна – в поздний период ночи.

Таким образом, супрессия третьей стадии сна привела к повышению концентрации мелатонина в слюне, и по-видимому, увеличение секреции мелатонина играет важную роль в

изменениях глюкозотолерантности. Известно, что мелатонин оказывает на углеводный обмен как немедленные, так и отсроченные эффекты, и эти два типа эффектов вызывают противоположные сдвиги глюкозотолерантности [2]. Немедленные эффекты обусловлены взаимодействием этого гормона с рецепторами, которое приводит к угнетению синтеза сАМР, и, как следствие, к снижению выделения инсулина [3]. Отсроченные эффекты направлены на повышение глюкозотолерантности, они проявляются тогда, когда секреция мелатонина прекращается и уровень его снижается. В частности, это десенситизация аденилатциклазы и увеличение синтеза сАМР [4], приводящие к повышению выброса инсулина, а также усиление экспрессии часовых генов, ответственных за временную организацию углеводного обмена [5]. Поэтому можно заключить, что влияние супрессии третьей стадии сна на утреннюю глюкозотолерантность зависит от индивидуального профиля секреции мелатонина. В 1 группе повышенный мелатонин в момент пробуждения оказывал на глюкозотолерантность свой немедленный эффект, приводящий к ее снижению. В то же время, у лиц с ранним пиком мелатонина ко времени пробуждения его уровень успевал снизиться и поэтому не оказывал негативного эффекта на глюкозотолерантность. Более того, повышенная концентрация мелатонина в первой половине ночи, возможно, усиливала отсроченные эффекты этого гормона, направленные на повышение чувствительности тканей к инсулину. Индивидуальные различия в профиле секреции мелатонина могут быть связаны с особенностями архитектуры сна, в частности, с длительностью парадоксального сна и ночных пробуждений. Парадоксальный сон, который доминирует под утро, характеризуется очень низким уровнем серотонина [6]. Следовательно, низкий утренний уровень мелатонина во 2 группе мог быть вызван сниженным количеством его предшественника. У 1 группы длительность парадоксального сна была ниже, а ночных пробуждений больше, что могло привести к повышению уровня серотонина, и как следствие, к увеличению секреции мелатонина к моменту пробуждения. Поэтому мы можем заключить, что индивидуальные различия в секреции мелатонина и глюкозотолерантности связаны не столько с общим количеством глубокого сна, сколько с длительностью парадоксального сна и ночных пробуждений.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 18-013-01187 А.*

#### **Список цитируемой литературы:**

- [1] Polishchuk, A., Liaukovich, K.M., MeiraeCruz, M., Saltykov, K.A., Nizhnik, A.N., Ukraintseva, Y.V. (2018). Selective slow-wave sleep suppression affects glucose tolerance and melatonin secretion. In Abstracts of the 24th Congress of the European Sleep Research Society, 25-28 September 2018. Basel, Switzerland (p.383). *J Sleep Res.* 27 Suppl 1:e12751.
- [2] Amaral, F. G. D., & Cipolla-Neto, J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of endocrinology and metabolism.* 62(4), 472-479.
- [3] Mulder, H., Nagornv, C. L. F., Lvssenko, V., & Groop, L. (2009). Melatonin receptors in pancreatic islets: good morning to a novel type 2 diabetes gene. *Diabetologia*, 52(7), 1240-1249.
- [4] Hazlerigg DG, Gonzalez-Brito A, Lawson W, Hastings MH, Morgan PJ. Prolonged exposure to melatonin leads to time-dependent sensitization of adenylate cyclase and down-regulates melatonin receptors in pars tuberalis cells from ovine pituitary. *Endocrinology.* 1993; 132 (1): 285–292.
- [5] Johnston, J. D., Tournier, B. B., Andersson, H., Masson-Pévet, M., Lincoln, G. A., & Hazlerigg, D. G. (2006). Multiple effects of melatonin on rhythmic clock gene expression in the mammalian pars tuberalis. *Endocrinology.* 147(2), 959-965.
- [6] Jacobs, B. L., & Fornal, C. A. (2010). Activity of brain serotonergic neurons in relation to physiology and behavior. In *Handbook of Behavioral Neuroscience*, Vol. 21, pp. 153-162. Elsevier.

## АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫСЫ В РАННЕМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

*Третьякова Л.В., Квичанский А.А., Комольцев И.Г.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: kind.dr.lee@gmail.com*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является ведущей причиной недееспособности среди молодых людей по всему миру. Известно, что в долгосрочном периоде после ЧМТ у большинства пациентов развиваются деменция, аффективные расстройства и расстройства памяти. Данные нарушения ассоциированы с дисфункцией гиппокампа, однако, в момент травмы гиппокамп не подвергается непосредственному механическому повреждению. До сих пор не ясно, какие механизмы лежат в основе формирования гиппокампальной дисфункции после ЧМТ.

Мы предполагаем, что генерализованный стрессовый ответ во время ЧМТ, а именно активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, приводит к большому выбросу кортизола, который и запускает нейровоспалительную реакцию в мозге. Данные процессы и индуцируют повреждение гиппокампа в ранний период после ЧМТ. Соответственно, в данной работе мы исследовали развитие нейровоспаления после ЧМТ в дорсальном (ДГ) и вентральном (ВГ) гиппокампах.

В качестве модели ЧМТ на крысах мы использовали модель латерального гидродинамического удара. Краниотомию производили за 1 час до травмы. Гидродинамический удар наносили в область сенсомоторной коры с правой стороны. В данных экспериментах было три группы животных: интактные, ложно оперированные (ЛО) и крысы с ЧМТ.

Крысы были декапитированы на 1-е, 3-и, 7-ые и 14-ые сутки после ЧМТ. Образцы ДГ и ВГ были выделены из ипси- и контралатерального (относительно места удара) полушарий и заморожены в жидком азоте. Тотальную РНК из образцов использовали для исследования экспрессии провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ , фракталкина (Fr) и его рецептора (CX3CR), глюкокортикоидного (GR) и минералокортикоидного (MR) рецепторов. Мы показали, что экспрессия мРНК ИЛ-1 $\beta$  в ДГ и ВГ обоих полушарий повышается по сравнению с ЛО животными на первый день после ЧМТ и в ипсилатеральном полушарии она значительно выше, чем в контралатеральном. В ипсилатеральных ДГ и ВГ и контралатеральном ДГ она оставалась повышенной по сравнению с ЛО животными до 7-го дня после ЧМТ. В дополнение, к 14-му дню относительная представленность мРНК ИЛ-1 $\beta$  в образцах как экспериментальных, так и ложно оперированных животных была выше, чем у интактных животных.

Уровень экспрессии мРНК ИЛ-6 повышался в ипсилатеральных ДГ и ВГ и контралатеральном ДГ на первый день после ЧМТ по сравнению с ЛО животными, но позднее возвращался к контрольному уровню, за исключением ипсилатерального ДГ, где наблюдалось повторное повышение уровня экспрессии на 7-й день после ЧМТ. В контралатеральном ВГ изменений не наблюдалось.

Относительная представленность мРНК ФНО- $\alpha$  была повышена в ипсилатеральных ДГ и ВГ и в контралатеральном ДГ на первый день после ЧМТ по сравнению с ЛО животными, после чего она возвращалась к уровню ЛО животных уже к третьему дню в контралатеральном полушарии и к 14-му в ипсилатеральном. Однако в ипсилатеральном полушарии ЛО крыс уровень экспрессии мРНК ФНО- $\alpha$  значительно повышался на 14-й день по сравнению с интактными животными. Изменений в контралатеральном ВГ найдено не было.

Мы показали, что уровень экспрессии мРНК CX3CR в ДГ и ВГ обоих полушарий повышается по сравнению с ЛО животными на первый день после ЧМТ. Причём в контралатеральном

полушарии он возвращается к уровню ЛО животных к 3-му дню после ЧМТ, в то время как в ипсилатеральном полушарии - к 7-му дню. Достоверных изменений уровней экспрессии мРНК фракталкина, глюкокортикоидного и минералокортикоидного рецепторов в образцах гиппокампа после ЧМТ обнаружено не было.

Таким образом, мы обнаружили острую реакцию на ЧМТ, которая сопровождалась повышением экспрессии мРНК всех трех цитокинов в ДГ и ВГ ипсилатерального полушария и в ДГ контралатерального полушария. Эта реакция достигала максимума через 1 сутки после ЧМТ. К 14 суткам уровень экспрессии мРНК цитокинов снижался до уровня, наблюдаемого у ЛО животных. Кроме того, было показано повышение уровня экспрессии ИЛ-1 $\beta$  и ФНО $\alpha$  через 14 суток после операции в ВГ ипсилатерального полушария у ЛО животных по сравнению с интактным контролем.

# МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ КОНЦЕНТРАЦИИ $Ca^{2+}$ В ПРЕСИНАПТИЧЕСКОЙ ТЕРМИНАЛИ ХОЛЕЦИСТОКИНИН-ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА

*Шайдуров В.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук*

Традиционно выделяется 3 типа выброса медиатора в синаптическую щель: синхронный (вызванный единичным потенциалом действия (ПД) в пресинаптической терминали и проявляющийся в течение нескольких миллисекунд синаптической задержки), асинхронный (вызванный серией ПД и наблюдающийся в течение нескольких десятков миллисекунд после прекращения этой пачки) и спонтанный (не связанный с ПД). Степень выраженности асинхронного выброса (АВ) зависит от типа синапса. Причины разной выраженности АВ в различных синапсах до сих пор не ясны.

Традиционно считается, что одним из факторов, определяющих выраженность асинхронного выброса медиатора, является динамика концентрации  $Ca^{2+}$  в пресинаптической терминали. В свою очередь, динамика концентрации  $Ca^{2+}$  определяется буферными свойствами пресинапса и кинетикой удаления  $Ca^{2+}$  из терминали. Последняя, в свою очередь, определяется функционированием  $Ca^{2+}$  насоса плазматической мембраны (PMCA) и натрий-кальциевого обменника (NCX).

Наиболее ярко выраженный АВ наблюдается в тормозных синапсах, сформированных холецистокенин-положительными интернейронами на пирамидных клетках гиппокампа. В этих синапсах практически полностью отсутствует PMCA-зависимая компонента регуляции концентрации  $Ca^{2+}$  внутри терминали (Rakhmatullina et al., 2018). Данное наблюдение подводит к вопросу о том, может ли отсутствие PMCA приводить к увеличению выраженности асинхронной компоненты выброса медиатора в этом синапсе и может ли NCX быть механизмом, обеспечивающим восстановление концентрации  $Ca^{2+}$  после ПД. Для исследования этого вопроса был использован метод численного решения уравнения диффузии-реакции кальция в буферной среде. В рамках нашей модели выброс медиатора инициируется входом  $Ca^{2+}$  в терминаль через кластер кальциевых каналов. Как синхронный так и асинхронный выброс медиатора являются функцией концентрации  $Ca^{2+}$  в терминали, причем синхронный выброс обусловлен быстрой компонентой кальциевого ответа, возникающего после ПД, а асинхронный выброс – медленной компонентой. Достоверное измерение буферных свойства аксона и тока через NCX в исследуемой пресинаптической терминали представляет очень сложную техническую задачу, поэтому было исследовано пространство свободных параметров модели, при которых в отсутствие PMCA может происходить значительное увеличение длительности медленной компоненты пресинаптического  $Ca^{2+}$  ответа и, как следствие, увеличение интенсивности АВ.

## **Список литературы:**

1. Rakhmatullina F., Vazetdinova A., Rozov A. Asynchronous neurotransmitter release at the mouse hippocampal synapses between CCK+ interneurons and CA1 pyramidal cells// FENS forum 2018, p205-B.05

# ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОЯВЛЕНИЕ ИМПУЛЬСИВНОГО И ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

*Груздева В.А., Зайченко М.И., Павлова И.В., Брошевицкая Н.Д., Григорьян Г.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: work.gruzdeva@gmail.com*

В последние десятилетия особо пристальное внимание уделяется влиянию раннего стресса, вызванного, в том числе, инфекциями, интоксикациями и т.д., на поведение и здоровье взрослого организма. Известно, что стресс в раннем возрасте существенно нарушает нормальное развитие гипоталамо-гипофизарно- надпочечниковой системы, в результате чего повторные стрессы вызывают неадекватные реакции нейроэндокринной, иммунной, гормональной и нервной систем организма. Это может приводить не только к нарушению нормального поведения, но и к развитию целого ряда психоневрологических заболеваний, таких как: шизофрения, болезнь Альцгеймера, биполярные расстройства, аутизм, наркомания, СДВГ и др. Согласно последним научным данным, одной из причин многих из перечисленных расстройств является нейровоспаление. В этой связи, в настоящей работе мы поставили цель исследовать влияние раннего провоспалительного стресса на проявления импульсивного и депрессивно-подобного поведения у взрослых крыс обоего пола. Нейровоспаление у крыс мы создавали с помощью введения бактериального липополисахарида (ЛПС) кишечной палочки в раннем возрасте.

Методика: Новорожденные крысята линии Вистар были разделены на три большие группы. На 3-5 дни постнатального развития одной группе животных подкожно вводили ЛПС (ЛПС группа, n=34) (50 мкг/кг веса), другой - эквивалентное количество физиол. раствора (ФИЗ группа, n=47), а третья группа оставалась интактной (ИНТ группа, n=43). Каждую группу разделяли на две подгруппы в зависимости от пола животного. Проявления импульсивного поведения у крыс изучали в возрасте с 2 до 3 мес. (подростковый возраст) и с 6 до 8 мес. (взрослые животные). Импульсивность оценивали по методике delay-discounting, при которой животному предоставляется выбор между малоценным немедленным и более ценным, но отставленным по времени подкреплениями. Предпочтение малоценного подкрепления указывает на проявление более импульсивного поведения, а предпочтение ценного отсроченного - самоконтролируемого поведения. Депрессивно-подобное поведение оценивали в 1- и 3-х месячном возрасте используя тесты на предпочтение сахарозы (ангедония) и «вынужденного плавания». В первом случае определяли объем выпитого крысой раствора сахарозы за сутки и отношение его к общему объему потребленной жидкости. Во втором тесте оценивали время зависания (неподвижного состояния) крысы при плавании в цилиндре с водой (D=20 см, высота наполнения - 30 см) за весь опыт (5 минут) и поминутно, а также число эпизодов зависания и среднюю длительность эпизодов за опыт. При статистической обработке результатов использовали программу STATISTICA 8.0, применяли дисперсионный анализ ANOVA, раздел factorial ANOVA, Repeated measures ANOVA. Анализировали влияние факторов ПОЛ, ГРУППА, ВОЗРАСТ.

Результаты: Исследование животных разных групп (ЛПС, ФИЗ и ИНТ) не выявило существенных различий между ними по уровню проявления импульсивного поведения, о чем свидетельствует недостоверность влияния фактора ГРУППЫ ( $F_{2,45}=1.07$ ,  $p=0.35$ ). Самки в возрасте 3 мес. оказались более импульсивными, чем самцы ( $F_{1,45}=6.22$ ,  $p=0.016$ ), в возрасте 6 мес. эти различия сглаживаются. Фактор ВОЗРАСТ также оказывал влияние на импульсивное поведение ( $F_{1,122}$ ,  $p=0.0000$ ), у молодых животных уровень импульсивности был выше.



Депрессивно-подобное поведение отчетливо проявилось в тесте ангедонии в возрасте одного месяца у обоих полов, самцы и самки ЛПС группы потребляли статистически значимо меньше раствора сахарозы, чем контрольные группы ( $F_{2,131}=13.9$ ,  $p<0.001$ ). Однако в возрасте 3-х месяцев эти различия исчезали, а показатели потребления раствора сахарозы увеличивались. В тесте «вынужденного плавания» межгрупповые различия не проявились ни в возрасте 1 месяца, ни в 3 месяца. Но по суммарному эффекту (независимо от группы) самки зависали на меньшее время и имели больший латентный период первого зависания. В три месяца самцы зависали на статистически значимо большее время, чем самки на первой минуте теста.

Заключение: таким образом, в этой модели исследования ранний провоспалительный стресс не оказал существенного влияния на проявление импульсивного поведения в тесте delay-discounting. Ранний ЛПС стресс вызывал отчетливое депрессивно-подобное поведение и у самцов, и у самок, но только в тесте ангедонии и только в возрасте одного месяца. Полученные данные могут быть обусловлены особенностями модели delay discounting и теста «вынужденного плавания», а также умеренной концентрацией ЛПС, вызвавшего недостаточно сильный воспалительный процесс, и влиянием ряда других факторов.

### **Список цитируемой литературы:**

Григорьян Г.А, Гуляева Н.В. Моделирование депрессии на животных: поведение как основа методологии, критериев оценки и классификации Ж. высш.нервн.деят. 2015. 65(6):643-660.

Zaichenko MI, Vanetsian GL, Merzhanova GK. Differences in behavior of impulsive and self-controlled rats in the open-field and light-dark tests. Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova. 2011 May-Jun;61(3):340-50. Russian. PubMed PMID:21861390.

Bekhat M., Neigh G.N.. Sex differences in the neuroimmune consequences of stress: Focus on depression and anxiety. Brain Behav. Immun. 2018.67:1-12.

Zaichenko MI, Merzhanova GK, Demina AV. Investigation of behavior of "impulsive" and "self-controlled" animals by the method of "emotional resonance". Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova. 2010 Mar-Apr;60(2):192-200. Russian. PubMed PMID: 20469594.

## **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВЯЗИ МОЗГА, СОПРОВОЖДАЮЩИЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ СОЗНАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ БЕССОЗНАТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ.**

**Зигмантович А.С.<sup>1</sup>, Копачка М.М.<sup>2</sup>**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук<sup>1</sup>  
ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко Минздрава России<sup>2</sup>  
e-mail: alexzig@ihna.ru*

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одним из самых распространенных факторов, ведущих к длительному нарушению сознания, восстановление которого может занимать достаточно длительное время. Развитие интенсивной терапии и нейрохирургии привело к тому, что с каждым годом увеличивается число пациентов, выживающих после тяжелой ЧМТ и потом длительное время находящихся в бессознательном состоянии. В сложившейся ситуации оценка не только анатомической, но и функциональной сохранности мозга, а также перспектив восстановления психической деятельности у таких пациентов, становится все более и более актуальной клинико-нейрофизиологической проблемой.

В последнее время для лечения и реабилитации пациентов с нарушением сознания широко применяются транскраниальную магнитную стимуляцию (ТМС) и психостимулотерапию, которые способны изменять уровень активности областей головного мозга и их взаимодействия. Для определения функциональных связей в данной работе использовали вейвлет-анализ, который может дать информацию о степени вовлечения в процессы обработки того или иного участка головного мозга, а также показать какие перестройки имеют место быть во время выполнения конкретной когнитивной задачи.

Всего были исследованы 15 пациентов в бессознательном состоянии (4 в вегетативном состоянии, 11 в состоянии akinetического мутизма). Регистрация биопотенциалов проводилась на оборудовании фирмы Нейроботикс (Россия) от 32 электродов, расположенных по системе 10-20%, до и после проведения ТМС-терапии (выполнялась исключительно врачом-неврологом, параметры стимуляции подбирались лечащим врачом индивидуально). В качестве стимулов использовали отрывки песен. Звуковая последовательность включала в себя 6 мелодий, число повторений одного отрывка – 11 раз, длительность предъявления каждого – 4 с. В последовательности обязательно присутствовала мелодия, которая была знакома пациенту до травмы, что выяснялось путем опроса его родственников. Фазовую синхронность вычисляют по всем возможным парам отведений по программы BrainConnections (Россия). При вычислениях учитывается поправка на множественные сравнения. Полученные вейвлет-связи отображаются цветными линиями по поверхности головы. Значения вейвлет-связей при этом сохраняются в таблицы для дальнейшего статистического анализа. Контрольная группа состояла из 10 здоровых испытуемых.

По результатам клинического обследования все пациенты были разделены на две группы. Первая - с положительной динамикой состояния. В нее вошли пациенты, у которых отмечены клинические признаки улучшения состояния и повышения уровня сознания. Во вторую группу вошли пациенты, у которых ТМС не привела к изменению состояния. При анализе фоновых значений вейвлет-связей после прослушивания песенных отрывков было отмечено, что у пациентов с положительной динамикой после ТМС-терапии значения вейвлет-связей повышаются и становятся выше, чем у здоровых испытуемых. Также для данной группы характерно появление межполушарных связей и увеличение количества «длинных» межполушарных диагональных связей. Стоит отметить снижение значений вейвлет-связей между правой и левой височными областями после курса ТМС. Их снижение в состоянии покоя может быть доказательством того, что пациенты после ТМС-терапии при спокойном

бодрствовании меньше подвержены влиянию посторонних стимулов, тем самым у них происходит более строгая фильтрация получаемой информации о внешнем мире.

Полученные результаты могут быть отправной точкой для дальнейших исследований, направленных на индивидуальный подбор стимулов для активации произвольных процессов у пациентов, параметров стимуляции, тем самым максимально раннего включения пациентов в процессы реабилитации.

#### **Список литературы:**

1. Giacino J. T., Fins J. J., Laureys S., Schiff N. D. Disorders of consciousness after acquired brain injury: the state of the science //Nature Reviews Neurology. – 2014. – Т. 10. – №. 2. – С. 99.
2. Vanhooeckle J., Hariz M. Deep brain stimulation for disorders of consciousness: systematic review of cases and ethics //Brain stimulation. – 2017. – Т. 10. – №. 6. – С. 1013-1023.
3. Rosazza C., Minati L. Resting-state brain networks: literature review and clinical applications //Neurological sciences. – 2011. – Т. 32. – №. 5. – С. 773-785.
4. Magee W. L., Tillmann B., Perrin F., Schnakers C. Music and disorders of consciousness: Emerging research, practice and theory //Frontiers in psychology. – 2016. – Т. 7. – С. 1273.
5. Demirtas-Tatlidede A., Vahabzadeh-Hagh, A. M., Bernabeu, M., Tormos, J. M., & Pascual-Leone, A.. Noninvasive brain stimulation in traumatic brain injury //The Journal of head trauma rehabilitation. – 2012. – Т. 27. – №. 4. – С. 274.
6. Романов А. С., Шарова Е. В., Кузнецова О. А., Окнина Л. Б., Волынский П. Е., Щекутьев Г. А. (2010). Возможности метода вейвлет-синхронизации в оценке длиннотентных компонентов акустического вызванного потенциала здорового человека. Журн. высш. нерн. деят, 60(6), 777-783.
7. Копачка М. М., Шарова Е. В., Трошина Е. М., Окнина Л. Б., Романов А. С., Челябинина М. В., Зайцев О. С., Чумаев А. А. Асимметрии длиннотентных компонентов слухового вызванного потенциала на фоне рТМС у здоровых испытуемых и пациентов с посттравматическим угнетением сознания //Асимметрия. – 2015. – Т. 9. – №. 2. – С. 18-29.

## ЭЭГ-КОРРЕЛЯТЫ ОСОБЕННОСТЕЙ ВОСПРИЯТИЯ ТАКТИЛЬНЫХ СТИМУЛОВ У ПАЦИЕНТОВ В ВЕГЕТАТИВНОМ СОСТОЯНИИ И КОМЕ

***Керова К.В.<sup>1</sup>, Портнова Г.В.<sup>1</sup>, Подлепич В.В.<sup>2</sup>, Мартынова О.В.<sup>1</sup>***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук<sup>1</sup>  
ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н. Н. Бурденко<sup>2</sup>  
e-mail: blum-blumina@mail.ru*

Специфика тактильного восприятия у пациентов в бессознательном состоянии остаётся недостаточно изученной. Несмотря на наличие данных об изменении активности мозга в ответ на тактильную стимуляцию, в частности, активации соматосенсорных зон и мозжечка у вегетативных пациентов [1], до сих пор не подтверждено, способны ли пациенты различать приятные и неприятные стимулы, испытывать боль или щекотку и самое главное существуют ли последствия у подобных воздействий на исход заболевания. В данном исследовании мы изучали не только наличие вызванного ответа при предъявлении приятных тактильных стимулов, но и предприняли попытку выявить у пациентов с разной давностью заболевания сенситивный период, в который реакция на тактильную стимуляцию была наиболее выражена независимо от исхода заболевания.

В исследовании приняли участие три группы пациентов, из которых 22 находились в острой фазе комы (до 14 дней без сознания), 21 в подострой (до 3 месяцев), 7 в вегетативном состоянии (после 3 месяцев). Все пациенты на момент обследования имели 3-4 балла по шкале комы Глазго, не имели в анамнезе иных неврологических и психических заболеваний, а также признаков эпи-активности на ЭЭГ. Картина МРТ или МСКТ пациентов характеризовалась диффузным аксональным повреждением, пациенты с очаговым поражением мозга были исключены из анализа. Прогноз пациента оценивался спустя 3-4 месяца после проведения обследования по шкале GOSE (Glasgow Outcome Scale Extended). В качестве контрольной группы в исследовании приняли участие 35 здоровых испытуемых. Исследование включало регистрацию фоновой ЭЭГ с закрытыми глазами в течение 1-2 минут, а также предъявление тактильной стимуляции, а именно, поглаживание мягкой кистью и жесткой щеточкой.

В число целей данного исследования входили 1) оценка эффекта тактильной стимуляции при помощи методов электроэнцефалографии у пациентов в остром и подостром состояниях комы, а также в вегетативном состоянии; 2) выявление межгрупповых различий.

Для анализа межгрупповых различий и исследования использовался дисперсионный анализ (ANOVA), а также пермутационный кластерный тест.

Результаты показали, что тактильная стимуляция независимо от ее типа у здоровых испытуемых вызывала увеличение мощности бета-ритма. Подобная реакция на тактильный стимул ранее была выявлена не только у взрослых, находящихся в сознании, но и у детей, в том числе и нетипично развивающихся [2]. Подобная реакция была выявлена только у пациентов в вегетативном состоянии и отсутствовала у пациентов в остром и подостром состоянии. Различия в вызванном ответе между приятными и неприятными стимулами у контрольной группы наблюдаются на частоте тета-ритма и проявляются в уменьшении его мощности при предъявлении приятных прикосновений по сравнению с неприятными. Данное

различие между стимулами отсутствует у пациентов в вегетативном состоянии и наиболее выражено у пациентов в подостром состоянии.

**Список цитируемой литературы:**

1. Eickhoff S.B., Dafotakis M., Grefkes C. et al. fMRI reveals cognitive and emotional processing in a long-term comatose patient // *Exp Neurol.* – 2008; Dec. – 214(2):240-6.
2. Портнова Г.В., McGlone F.P., Танькина О.А. и др. ЭЭГ-корреляты особенностей восприятия тактильных стимулов у детей с расстройствами аутистического спектра // *СТМ.* – 2019. – Т.11. № 1. - С. 169-176.

# СОПОСТАВЛЕНИЕ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ КОННЕКТИВНОСТИ И РЕЗУЛЬТАТОВ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЛУЧЕВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕНИНГИОМАМИ МЕДИОБАЗАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПРАВОГО И ЛЕВОГО ПОЛУШАРИЙ (пилотное исследование)

*Ярец М.Ю.<sup>1</sup>, Кулева А.Ю.<sup>1</sup>, Струнина Ю. В.<sup>2</sup>*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук<sup>1</sup>  
ФГАУ “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко” Минздрава России<sup>2</sup>  
e-mail: [Kylaria@mail.ru](mailto:Kylaria@mail.ru)*

Исследование общих церебральных реакций на радиотерапию (РТ) при опухолевом поражении правого и левого полушарий головного мозга, а также выявление маркеров эффективности этого лечебного воздействия относится к числу перспективных направлений в медицине и психофизиологии.

Работа направлена на изучение функциональной активности (ФА) мозга пациентов с опухолью медиобазальных отделов правого и левого полушарий при положительном эффекте радиотерапии (уменьшении объема опухоли). ФА оценивали по данным динамического нейропсихологического тестирования, а также исследования функциональной коннективности головного мозга. Последнюю анализировали до и через 6 месяцев после РТ в состоянии покоя (по данным фМРТ) и при зрительном запоминании (данные ЭЭГ) у 10 пациентов с опухолью медиобазальных отделов правого (6 человек) и левого (4 человека) полушарий. Группа контроля – 12 здоровых испытуемых.

Выявлено определенное соответствие топографических особенностей фМРТ коннективности сети управляющих функций покоя с данными реактивных перестроек когерентности ЭЭГ в задаче зрительного запоминания у здоровых людей и пациентов с опухолью головного мозга до лечения. Показана информативность анализа пространственной организации функциональной коннективности (в частности, когерентных связей ЭЭГ) для оценки эффективности радиотерапии у больных с опухолевым поражением правого и левого полушарий мозга.

Так, до РТ наибольшие нарушения фоновой коннективности фМРТ покоя, а также реактивных перестроек когерентности ЭЭГ при зрительном запоминании (по сравнению с нормой) характерны для пациентов с левосторонней опухолью. Этому соответствовали выявленные у них нарушения при устном\вербальном воспроизведении зрительной информации, нехарактерные для пациентов с правосторонним поражением. После РТ в сенсibilизированных мнестических пробах нарастание негативной динамики, равно как и отличия от нормы реактивных перестроек когерентности ЭЭГ, стало более характерным для больных с правосторонним расположением опухоли.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 17-15-01426.*

## КАТЕГОРИЗАЦИЯ ЗРИТЕЛЬНЫХ ЗООСОЦИАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ В НИЖНЕЙ ВИСОЧНОЙ КОРЕ МАКАК-РЕЗУСОВ

***Васильева Л.Н.<sup>1</sup>, Расс Б.<sup>2</sup>, Койано К.<sup>2</sup>, Бондарь И.В.<sup>1</sup>, Леопольд Д.<sup>2</sup>***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт высшей нервной деятельности Российской академии наук<sup>1</sup>  
Национальные институты здоровья, Национальный институт психического здоровья, Отдел  
по когнитивной нейрофизиологии и визуализации, Бетесда, Мэриленд, США<sup>2</sup>  
e-mail: [luvasilieva@mail.ru](mailto:luvasilieva@mail.ru), [bondar@ihna.ru](mailto:bondar@ihna.ru)*

Зрение является доминирующей сенсорной модальностью для человека, человекообразных обезьян и приматов Старого Света. Оно служит в том числе для восприятия социальных сигналов от сородичей. Существование в стае жизненно важно для приматов и адекватное поведение в социальном контексте модулируется в том числе зрительной информацией. Лицо используется для коммуникации между особями: они передают информацию о их эмоциональном состоянии, готовности к спариванию, возрасте и т.д.

Лица представляют особую категорию зрительных стимулов, с которые играют важную роль в социальной жизни приматов. Недавние исследования обнаружили сеть участков в нижней височной области обезьян (Harries, Perrett, 1991; Tsao et al., 2008) и человека (Pinsk et al., 2005; Popivanov et al., 2012), селективно отвечающих на лица. Детальное исследование роли различных узлов обработки информации о лицах позволяет предположить разделение ролей между ними (Freiwald, Tsao, 2010).

В эксперименте были задействованы три обезьяны, каждой из которых были имплантированы микроэлектроды фирмы Microprobes for Life Sciences (США) в определенный участок нижней височной коры (обезьяна А – участок ML; обезьяна М – AM; обезьяна S – AF, классификация по Freiwald, Tsao, 2010). Во время эксперимента бодрствующая обезьяна фиксировала взор на центральной точке, появляющейся на экране, вслед за которой предъявляли зрительные стимулы. Успешную и длительную фиксацию подкрепляли соком. Нейрофизиологический сигнал записывали с открытыми фильтрами с частотой дискретизации 24.4 кГц, а после эксперимента проводили частотную фильтрацию в диапазоне 1-100 Гц и снижали частоту дискретизации до 1000 Гц.

Было использовано три набора стимулов по 120 изображений. Первый набор стимулов содержал картинки 8 категорий с социальным содержанием по 15 стимулов каждая: груминг, агрессия, детеныш и др. Второй набор содержал 240 изображений в 12 категориях социальных ситуаций из жизни макак, а также лица обезьян крупным планом: лица взрослых и детенышей макак и лица обезьян других видов (не относящихся к макакам). Третий набор стимулов содержал только лица макак анфас. Стимулы в этом наборе различались по возрасту обезьяны (взрослые, подростки, детеныши), размеру (3.8, 7.7 и 15.3°) и цветности (ч/б и цветные). Каждый стимул из наборов был предъявлен животному 30-35 раз.

Для усреднения вызванных потенциалов (ВП) использовали отфильтрованный нейрофизиологический сигнал, полученный в ответ на предъявление определенного стимула. ВП на стимулы первого и второго наборов подвергли анализу главных компонент. Оказалось, что первая и вторая главные компоненты описывают более 80 % общей вариабельности данных. На основании этого мы проводили кластеризацию средних ВП на разные стимулы в двумерном пространстве первых двух компонент.

Кластеризация средних ВП в пространстве первой и второй главных компонент на стимулы из первого набора показала, что ответы на лица детенышей надежно отделяются от ответов на остальные стимулы. Категория стимулов с лицами детенышей - единственная, где лицо обезьяны было изображено крупным планом, поэтому полученный результат можно

было интерпретировать и как эффект крупного лица на изображении, так и лица макаки определенного возраста.

Второй набор стимулов содержал среди прочих изображения лиц детенышей и взрослых макак, что позволило проверить предположения о влиянии изображений лиц или возраста изображаемой особи на результаты классификации. По результатам разделения ответов на стимулы второго набора можно сделать вывод, что именно наличие лица на изображении является критическим признаком для ВП. По всей форме зрительного ВП невозможно классифицировать ответы на лица взрослых и детенышей, однако в случае обезьяны S удалось отделить ответы на лица обезьян других видов от ответов на другие стимулы.

Мы предположили, что если ответы на лица обезьян разного возраста не отличаются на уровне целого ВП, мы можем найти компоненты ВП, которые различаются в ответах на эти группы стимулов. Реакции нижней височной коры в ответ на третий набор стимулов исследовали в экспериментах на обезьяне S. Почти все исследованные компоненты ВП обнаруживали зависимость амплитуды от размера стимула. Один лишь компонент 135-145 мс от включения стимула обнаруживает зависимость и от размера стимула, и возраста.

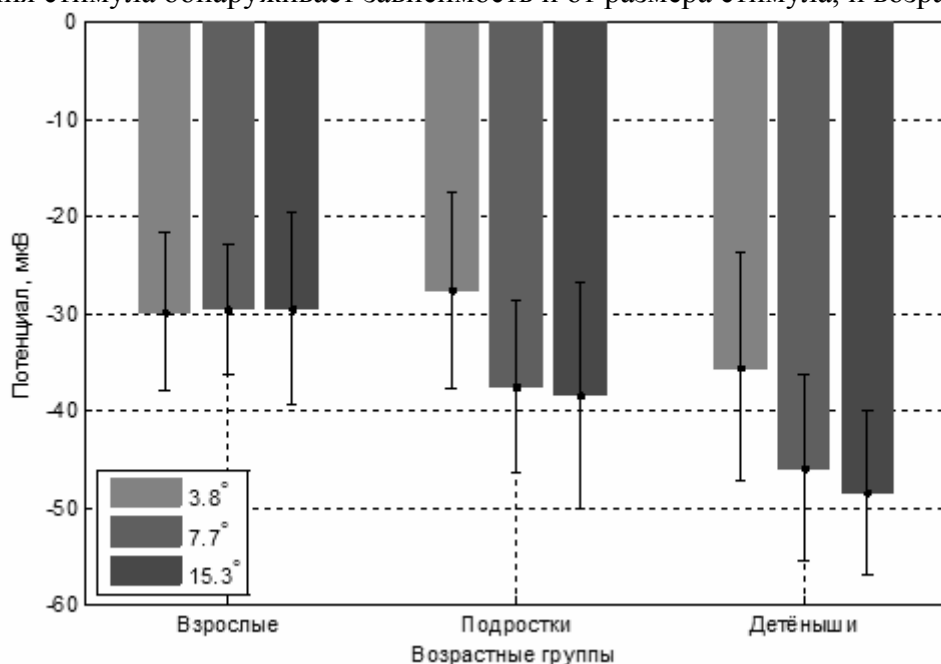


Рисунок. Средние значения амплитуды ВП в промежутке 135-145 мс после предъявления стимула. По оси абсцисс отложены группы лиц макак разного возраста. По оси ординат – среднее значение потенциала исследуемого компонента ВП. Разными оттенками отмечены значения, соответствующие стимулам разного размера. Планки погрешностей соответствуют значению стандартной ошибки среднего.

Таким образом, получается, что по полной форме ВП нижней височной коры можно надежно отделить ВП на лица от остальных стимулов с зоосоциальным содержанием, однако ответы на лица обезьян разного возраста по всей форме ВП неразличимы. Из сигнала в участке AF у обезьяны S удалось выделить ответы на лица обезьян других видов от ответов на остальные стимулы. Нам удалось обнаружить компонент через 135-145 мс после предъявления стимула, чувствительный к возрасту особи на изображении.

1. Freiwald W.A., Tsao D.Y. Functional compartmentalization and viewpoint generalization within the macaque face-processing system // *Science*. - 2010. - Vol. 330. № 6005. - P. 845-851.
2. Harries M.H., Perrett D.I. Visual processing of faces in temporal cortex: physiological evidence for a modular organization and possible anatomical correlates // *J. Cogn. Neurosci.* 1991. V. 3. № 1. P. 9-24.



3. Pinsk M.A., DeSimone K., Moore T., Gross C.G., Kastner S. Representations of faces and body parts in macaque temporal cortex: a functional MRI study // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2005. V. 102. № 19. P. 6996-7001.
4. Popivanov I.D., Jastorff J., Vanduffel W., Vogels R. Stimulus representations in body-selective regions of the macaque cortex assessed with event-related fMRI // Neuroimage. 2012. V. 63. № 2. P. 723-741.
5. Tsao D.Y., Freiwald W.A., Knutsen T.A., Mandeville J.B., Tootell R.B. Faces and objects in macaque cerebral cortex // Nature Neuroscience. - 2003. - Vol. 6. № 9. - P. 989-995.
6. Tsao D.Y., Freiwald W.A., Tootell R.B., Livingstone M.S. A cortical region consisting entirely of face-selective cells // Science. - 2006. - Vol. 311. № 5761. - P. 670-674.
7. Tsao D.Y., Moeller S., Freiwald W.A. Comparing face patch systems in macaques and humans // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2008a. V. 105. № 49. P. 19514-19519.

# ПРИМЕНЕНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА И ДЕПРЕССИИ У КРЫС

*Зенько М.Ю., Рыбникова Е.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П.Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург  
e-mail: zenkomy@infran.ru*

Тревожно-депрессивные заболевания являются обширной группой психических заболеваний, развитие которых у человека и животных, как правило, сопровождается нарушением регуляции гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС). Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) отсрочено развивается после сверхинтенсивных стрессорных воздействий, характеризуется сенситизацией глюкокортикоидной обратной связи и сниженным уровнем глюкокортикоидов в крови. В то время как нарушение торможения ГГАС, сопровождающееся ее гиперфункцией и повышенным уровнем глюкокортикоидных гормонов в крови, наблюдается при депрессивных патологиях. Эффективность существующей фармакотерапия депрессии и ПТСР довольно низка. Одним из новых эффективных способов коррекции поведенческих постстрессорных нарушений является посткондиционирование умеренной гипобарической гипоксией. Механизмы гипоксического посткондиционирования до настоящего времени практически не изучены и представляют собой актуальную проблему для исследований. Цель работы состояла в оценке эффективности гипоксического посткондиционирования в экспериментальной модели ПТСР «стресс-рестресс» и модели депрессии «выученная беспомощность» у крыс, а также анализе возможных нейроэндокринных механизмов его стресс-протективного действия. Эксперименты выполнены на 78 лабораторных крысах-самцах линии Вистар из ресурсов ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН» с массой тела 200–250 г. Для индукции экспериментального аналога ПТСР у крыс была использована модель «травматический стресс - умеренный рестресс». Парадигма «стресс–рестресс» воспроизводит патогенную стрессирующую ситуацию, связанную с угрозой жизни, в которой фактор, напоминающий о травматическом стрессе - рестресс, приводит к запуску развития постстрессорного состояния. В экспериментальной модели депрессии «выученная беспомощность» (ВБ) неизбежный стресс создается путем электрокожной стимуляции (1 мА, 1 Гц) в установке с токопроводящим полом (60 стимуляций). С целью коррекции постстрессорных патологий применяли гипоксическое посткондиционирование (ПостК) путем трехкратной экспозиции умеренной гипобарической гипоксии (360 мм рт. ст., 2 ч) в барокамере проточного типа с 24-часовым интервалом. Развитие патологий и эффективность ПостК оценивали поведенческими методами «Приподнятый крестообразный лабиринт» на 4 день и «Открытое поле» на 5 и 10 сутки после стрессорного воздействия. При помощи твердофазного иммуноферментного анализа был определен уровень кортикостерона в крови крыс: повышенный и пониженный уровни в плазме при ВБ и ПТСР соответственно. С использованием ингибитора синтеза глюкокортикоидов – метирапона, (30 мг/кг, в.б., Santa Cruz Biotechnology Inc.) блокирующего работу 11-бета-гидроксилазы, были выявлены глюкокортикоид-зависимые пути развития данных патологий и их вклад в стресс-протективное действие гипобарического ПостК. Для оценки влияния вклада гипоксия-индуцибельного фактора HIF1, основного внутриклеточного сенсора гипоксии, в протективный эффект гипоксического ПостК был применен ингибитор трансляции HIF1a – топотекан (1 мг/кг, в.б., Merck). Частичная блокада сверхвыброса глюкокортикоидов метирапоном, вводимым за 30 минут до травматического стресса в модели ПТСР, предотвращала развитие посттравматической патологии, но подобное введение метирапона не

влияло на развитие депрессивноподобного состояния модели ВБ. Гипоксическое посткондиционирование эффективно предотвращало развитие экспериментальных ПТСР и ВБ по результатам поведенческих тестов, в то время как сочетанное применение метирапона и ПостК таким эффектом не обладало. По показателям горизонтальной активности и иммобилизации в ОП не было выявлено достоверных отличий группы ПостК-топотекан от группы чистого посткондиционирования и контроля. Это может говорить о том что, по-видимому, гипоксия-индуцибельный фактор HIF1 $\alpha$  не является основным стресс-протективным мессенджером гипоксического посткондиционирования, в отличие от глюкокортикоидных гормонов. Иммуногистохимическое исследование экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в экстрагипоталамических структурах мозга крыс модели ВБ показало достоверное снижение количества интенсивных GR-иммунопозитивных клеток в зоне СА1 гиппокампа на 10 сутки, применение ПостК в свою очередь достоверно повышало экспрессию GR в данной зоне. Полученные в экспериментах данные указывают на то, что стрессорный выброс глюкокортикоидных гормонов, по-видимому, вовлекается в формирование патологии в модели ПТСР, но не «выученной беспомощности» у крыс, несмотря на то, что последняя сопровождается гиперфункцией ГГАС. А вызываемая гипобарическим ПостК коррекция поведенческих и нейроэндокринных нарушений в этих моделях требует вовлечения глюкокортикоидных гормонов, но не HIF1 $\alpha$ , и, вероятно, реализации их стресс-протективного действия.

*Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН № 42.*

# ВОВЛЕЧЕНИЕ МЕТАБОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГЛУТАМАТА В НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ ПРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ГИППОКАМПА, ВЫЗВАННОЙ ХЛОРИДОМ ТРИМЕТИЛОЛОВА

Першина Е.В.<sup>1</sup>, Камалтдинова Э.Р.<sup>1,2</sup>, Бугаев-Макаровский Н.А.<sup>1,3</sup>, Архипов В.И.<sup>1,2</sup>

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино*<sup>1</sup>  
*Пушкинский государственный естественно-научный институт, г. Пущино*<sup>2</sup>  
*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*<sup>3</sup>  
E-mail: [pershina-ev@mail.ru](mailto:pershina-ev@mail.ru)

Метаботропные рецепторы глутамата (мГлуР) в последнее время привлекли внимание исследователей как перспективные мишени для терапии различных неврологических расстройств. В данной работе исследовали вовлечение мГлуР в нейровоспаление при нейродегенеративных повреждениях гиппокампа крыс, вызванных хлоридом триметилолова (ТМТ).

Эксперименты проводились на самцах крыс линии Вистар (n=45) весом 210–220 г. Подопытной группе животных, после предварительного привыкания к рукам, делали однократную инъекцию ТМТ (Sigma) в дозе 7,5 мг/кг, п/к, для предотвращения судорожной активности через 48 часов после инъекции ТМТ крысам вводили нембутал 20 мг/кг, в/б. Контрольным животным делали инъекции изотонического раствора NaCl в том же объеме. Тестирование поведения крыс проводили через 2-3 недели после ТМТ с помощью реакции пассивного избегания в аппаратно-программном комплексе «Шелтер» («Нейроботикс», Москва) и навыка чередования с последующим изменением подкрепляемого отсека в лабиринте с четырьмя отсеками. Оценку морфологических особенностей повреждений гиппокампа проводили через 1 и 3 недели после инъекции ТМТ, на эпоновых полутонких срезах. Уровень мРНК в гиппокампе для метаботропных рецепторов глутамата (мГлу1-5,7), маркера воспаления – циклооксигеназы2 (COX2) и противовоспалительных цитокинов интерлейкина-10 (ИЛ10) и трансформирующего фактора роста бета1 (ТФР-бета1), определяли через 1 и 3 недели после инъекции ТМТ методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Количественное содержание белка для ИЛ10 и ТФР-бета1 в гиппокампе определяли с помощью коммерческого набора Sandwich ELISA Kits (Product No.SEA124Ra, SEA056Ra) в соответствии с инструкциями производителя через 2 и 4 недели после ТМТ.

Поведенческие тесты в лабиринте с четырьмя отсеками начинали через одну неделю после инъекции нейротоксиканта. Животные контрольной и опытной группы обучались одинаково и воспроизводили навык без достоверных различий. Однако, при изменении режима подкрепления (смена подкрепляемой полки) животные подопытной группы предпочитали совершать побежки к уже не подкреплявшейся целевой полке, что считалось за ошибку. Количество ошибок у животных после ТМТ было больше по сравнению с контрольной группой. Тестирование реакции пассивного избегания также выявили дефекты в поведении крыс подопытной группы. Через 1 неделю после обучения (электрокожное раздражение в темном отсеке) проводили проверку памяти животных. Большинство животных контрольной группы, когда их помещали в светлый отсек, не двигались в течение 3 мин, демонстрируя реакцию замирания, в то время как животные подопытной группы входили в темный отсек через  $26 \pm 24$  с., что говорит о нарушении памяти.

Результаты гистологических исследований подтвердили дефекты гиппокампа: через неделю после инъекции ТМТ наблюдали гибель пирамидных нейронов поля CA4-CA3 гиппокампа, которая не прекращается и через 3 недели.

Анализ экспрессии генов показал, что из всех подтипов мГлу рецепторов через 1 неделю после ТМТ вовлекаются только мГлу4, уровень мРНК которых был достоверно повышен.

Через 3 недели после ТМТ уровень мРНК мГлу4 остается повышенным, а также достоверно повышается экспрессия генов, кодирующих мГлу3 рецепторы и одного из маркеров воспаления - COX2. (Рис. 1А)

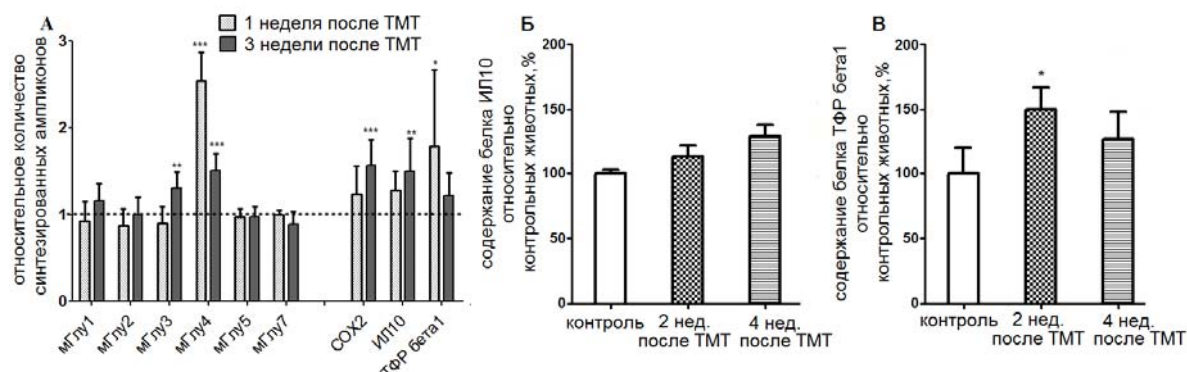


Рис.1 А - Относительный уровень экспрессии генов в гиппокампе крыс (n = 30) через 1 и 3 недели после инъекции ТМТ (уровень экспрессии в гиппокампе контрольных животных принят за единицу, пунктирная горизонтальная линия); Б - содержание белка ИЛ10 в гиппокампе через 2 и 4 недели после ТМТ (за 100% взято значение для контрольной группы); В – содержание белка ТФР-бета1 в гиппокампе через 2 и 4 недели после ТМТ (за 100% взято значение для контрольной групп); \*- P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,0001 (ANOVA с последующим множественным сравнением, тест Даннета).

Интересной является возможность предотвращения нейровоспалительных явлений с помощью позитивных аллостерических модуляторов мГлу4, поскольку эффект, оказываемый на глиальные клетки, может быть синергичен с помощью модулирующей активности, проявляемой агонистами рецептора мГлу4 на периферической иммунной системе [1]. Что касается мГлу3 рецепторов, в работе Bruno с соавторами показано, что активация рецепторов мГлу3 усиливает образование ряда нейротрофических факторов, включая, ТФР-бета1, нейротрофический фактор мозга и глиальный нейротрофический фактор [2]. Принимая во внимание, что нейропротекторные эффекты микроглии проявляются при релизе противовоспалительных цитокинов ТФР-бета1 и ИЛ10, мы исследовали уровень мРНК, и содержание данных противовоспалительных цитокинов в гиппокампе после ТМТ. Результаты указывают, что уровень мРНК ТФР-бета1 повышается через 1 неделю и возвращается к контрольному уровню к 3 неделям после ТМТ. Экспрессия генов ИЛ10 через 1 неделю не отличается от контроля, а через 3 недели после ТМТ повышается. (Рис. 1А). Результаты иммуноферментного анализа показали, что содержание ИЛ10 через 2 недели достоверно не отличалось от контроля, а через 4 недели наблюдалась тенденция к повышению (Рис.1 Б), в то время как содержание пептида ТФР-бета1 достоверно увеличивалось через 2 недели и не отличалось от контроля через 4 недели после ТМТ (Рис. 1В). Таким образом, результаты указывающие на вовлечение мГлу3 и мГлу4 рецепторов в процесс нейровоспаления и возможную связь с противовоспалительными цитокинами, делают их привлекательными мишенями для нейропротекции.

#### Список литературы:

1. Fazio F., Ulivieri M., Volpi C., Gargaro M., Fallarino F. Targeting metabotropic glutamate receptors for the treatment of neuroinflammation // *Curr Opin Pharmacol.* 2018. Vol. 38. – P. 16–23
2. Bruno V, Battaglia G, Casabona G, Copani A, Caciagli F, Nicoletti F. Neuroprotection by glial metabotropic glutamate receptors is mediated by transforming growth factor-beta. *J Neurosci.* 1998. Vol. 18. № 23. – P. 9594-600.

## УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ СТРЕССА И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПОСЛЕ УСТАНОВКИ ЧРЕСКОЖНОЙ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ ГАСТРОСТОМЫ У ПАЦИЕНТОВ С БОКОВЫМ АМИОТРОФИЧЕСКИМ СКЛЕРОЗОМ

Черненко В.Ю.<sup>1</sup>, Фоминых В.В.<sup>1,2</sup>, Атаулина А.И.<sup>1</sup>, Горбачев К.В.<sup>1</sup>, Дружкова Т.А.<sup>3</sup>,  
Брылев Л.В.<sup>1,2,3</sup>, Гехт А.Б.<sup>3,4</sup>, Гуляева Н.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «ГКБ имени В.М. Буянова ДЗМ», Москва

<sup>2</sup> ФГБУН Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии, Москва

<sup>3</sup> ГБУЗ НПЦ имени З.П. Соловьева ДЗМ, Москва

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

Email: [fominyhverik@gmail.com](mailto:fominyhverik@gmail.com)

**Введение:** Дисфагия и постепенное нарастание нарушений глотания в связи с прогрессирующей гибелью мотонейронов — одно из проявлений бокового амиотрофического склероза (БАС).

Нарушения питания и потеря массы тела приводят к нарушению иммунитета, утомляемости, повышает риск вторичных осложнений и ускоряет прогрессирование заболевания (Heffernan C. et al., 2004). Установка чрескожной эндоскопической гастростомы (ЧЭГ) является общепризнанным методом коррекции нутритивной недостаточности и известно, что своевременное проведение манипуляции приводит к продлению жизни при БАС (Andersen et al., 2012). ЧЭГ может быть установлена с использованием местной анестезии и с проведением местной анестезии и внутривенной седации (Thompson et al., 2017).

Однако по данным исследований (Carvalho et al., 2017) и клинических наблюдений в ряде случаев после установки ЧЭГ отмечается резкое ухудшение неврологического статуса, не смотря на коррекцию нутритивной недостаточности. Подобные влияния могут быть связаны с эффектом экстероцептивного стресса (установка ЧЭГ) и приводить к прогрессированию процессов нейродегенерации, однако данные процессы малоизучены при БАС.

**Цель исследования:** 1) изучение экстероцептивного (болевого и хирургического) стресса и нейродегенерации в модели установки ЧЭГ при БАС 2) определение наиболее безопасного по влиянию на нейродегенерацию протокола анестезии.

**Материалы и методы:** Исследовались 2 группы пациентов: 15 пациентов с установкой ЧЭГ под местной анестезией и 15 пациентов -- с комбинированной анестезией (местная + седация пропофолом). Все пациенты дали согласие на включение в исследование, исследование одобрено локальным этическим комитетом (№ 44). Оценивались основные клинические показатели (возраст, ЖЕЛ, ИМТ, стадия БАС по классификации Kings College London, длительность БАС от постановки диагноза и начала симптоматики, оценка по ALSFRS-R, индекс десатурации, ЭХО-КГ), основные биохимические показатели (креатинин, мочевины, белок, альбумин, КФК общая, тропонин), а также маркеры нейродегенерации и стресса в сыворотке крови и слюне до, сразу после установки ЧЭГ и через 3 месяца.

**Результаты:** Была проанализирована общая группа пациентов: средний возраст составил 61 год, 20 пациентов были включены на стадии 4А и 10 на стадии 4В, ЧЭГ устанавливалась в среднем через 17 месяцев после диагноза и 3 года после развития первых симптомов. Средний уровень ALSFRS-R 27, средняя ЖЕЛ 47 %, ИМТ 21.4. В течение двух лет наблюдения выжили 9 пациентов, среднее время после установки ЧЭГ составило 5 месяцев (от 5 дней до 20 месяцев).

При сравнении двух групп группы по полу, возрасту и основным клиническим характеристикам не отличались между собой. По уровню исходных показателей уровень белка, альбумина, креатинина и мочевины в обеих группах был на уровне «хорошего прогноза» согласно данным Chio A. et al. При анализе ЭХО-КГ и уровня кардиоспецифических ферментов синдрома Такотцубо, как было описано ранее (Choi S.J. et al., 2017) в нашей группе выявлено не было.

В общей группе пациентов было получено увеличение уровня кортизола в слюне после установки ЧЭГ, уровня кортизола и глюкозы в сыворотке крови после установки ЧЭГ, а также повышение уровня СРБ и интерлейкина-6 на 3-4 день, тогда как по уровню нейтрофилов и уровню липидов разницы получено не было. В двух группах пациентов с разными типами седации разницы по уровню данных показателей получено не было, однако отмечена лучшая выживаемость в группе пациентов с комбинированным протоколом анестезии. Оценка влияния уровня стресса на выживаемость и уровень нейродегенерации была затруднена в связи с крайне низкой выживаемостью пациентов до отдаленной точки исследования (3 месяца).

**Выводы:** Таким образом, нами впервые показано влияние установки ЧЭГ на уровень стресса у пациентов с БАС, выявлено отсутствие влияния протокола анестезии на изученные маркеры и выявлена лучшая выживаемость в группе пациентов с использованием комбинированного протокола анестезии, что требует подтверждения на большей группе больных.

Работа поддержана грантом РФФИ\_мол\_а N 18-315-00228 и фондом помощи больным БАС «Живи сейчас».

# ПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ МАРКЕРЫ PCNA И ФОСФОРИЛИРОВАННЫЙ ПО СЕРИНУ 10 ГИСТОН H3 (H3 S10ph) В ТАНИЦИТАХ ДНА ТРЕТЬЕГО ЖЕЛУДОЧКА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ СТАРЕНИИ

Антипова М.В.<sup>1,2</sup>, Суфиева Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: st057040@student.spbu.ru

Нейрогенез в мозге половозрелых животных был описан для субвентрикулярной зоны боковых желудочков и субгранулярной зоны зубчатой фасции гиппокампа. Исследования последних лет показали, что в гипоталамусе также имеется ниша нейтральных стволовых клеток (НСК). Она локализована в области срединного возвышения гипоталамуса. Установлено, что в роли НСК в срединном возвышении гипоталамуса выступают танициты. Танициты являются высокоспециализированными глиальными клетками, выстилающими дно третьего желудочка, которые отличаются от типичных ресничных эпидимочитов по цитохимическим, морфологическим и физиологическим характеристикам. Эти клетки характеризуются наличием длинного базального отростка, который контактирует с кровеносными сосудами подлежащей нервной ткани, в том числе с сосудами портальной системы гипофиза. В связи со своим местоположением в мозге танициты обладают разнообразным спектром функций: они формируют ликворо-энцефалический и гемато-ликворный барьеры, транспортируют различные вещества (гормоны, метаболиты, ростовые факторы), регулируют высвобождение рилизинг-факторов нейросекреторными клетками гипоталамуса в портальную систему гипофиза. В литературе выделяют 4 субпопуляции таницитов –  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  и  $\beta 2$ , различающиеся по расположению в углублении третьего желудочка, а также по некоторым функциональным, структурным и цитохимическим характеристикам (Goodman T., 2015; Rodríguez E.M., 2005). Было установлено, что танициты способны к пролиферации и дифференцировке как в астроциты, так и в нейроны. Рядом исследователей было показано, что в качестве НСК в гипоталамусе выступают  $\alpha 2$  танициты (Robins S.C., et al., 2013), в других исследованиях нейрогенные свойства показаны у  $\beta$  таницитов (Lee D.A., et al., 2012; Naan N., et al., 2013). В связи с противоречивыми данными по этому вопросу все еще стоит задача изучить разные типы таницитов и их возможность выступать в роли НСК на разных этапах постнатального развития. Целью настоящего исследования было изучить распределение пролиферативных маркеров PCNA и фосфорилированного гистона H3 (H3 S10ph) в различных субпопуляциях таницитов в ходе постнатального онтогенеза и при старении. В качестве материала исследования были использованы образцы головного мозга крысы на разных сроках постнатального развития: 7, 14, 30 суток постнатального развития, взрослые (4-6 мес.) и старые (20 мес.) животные (n=3 для каждого срока). Для выявления PCNA и H3 S10ph были использованы методы иммуногистохимии. PCNA и H3 S10ph являются одними из основных пролиферативных маркеров. Определенные фазы клеточного цикла характеризуются присутствием тех или иных белков-маркеров. Так, например, PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) присутствует во всех фазах клеточного цикла, но его пик приходится на S- фазу клеточного цикла. В свою очередь, H3 S10ph характерен для клеток, находящихся в фазе митоза/мейоза. При иммуногистохимическом исследовании H3 S10ph было обнаружено, что данный маркер выявлялся только в единичных  $\alpha 1$  таницитах, и только в первую неделю постнатального развития. На более поздних сроках этот белок в выстилке дна третьего желудочка не идентифицировался. При исследовании распределения PCNA в таницитах было выявлено, что в первую неделю развития этот белок выявляется главным образом в  $\alpha 1$  таницитах, однако слабая реакция также идентифицируется и в  $\alpha 2$  и  $\beta$  таницитах. У 14- и 30-дневных крысят,



половозрелых животных, также как и у старых, PCNA был выявлен только в  $\alpha 1$  таницитах, в то время как в других субпопуляциях таницитов реакция на PCNA отсутствовала. Таким образом, данная работа показывает, что H3 S10ph выявляется в  $\alpha 1$  таницитах только в первую неделю постнатального развития, в то время как PCNA выявляется на всех исследованных стадиях постнатального развития: на 7-ые сутки в  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  и  $\beta 2$  таницитах, а начиная со второй недели – только в  $\alpha 1$  таницитах. Полученные данные могут указывать на то, что активная пролиферация характерна лишь для молодых животных, в то время как присутствие PCNA в  $\alpha 1$  таницитах на всех исследуемых сроках может свидетельствовать в пользу гипотезы о пролиферации  $\alpha 1$  таницитов у половозрелых и старых животных. Скорее всего, выявление PCNA у особей на 14 сутки и старше связано с медленным катаболизмом этого белка, в связи с этим, PCNA является более удобным маркером для изучения пролиферативного потенциала медленно делящихся клеточных популяций, таких как танициты дна третьего желудочка.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-315-00134*

#### **Список используемой литературы:**

- 1) Goodman T., Hajihosseini M.K Hypothalamic tanycytes-masters and servants of metabolic, neuroendocrine, and neurogenic functions. *Frontiers in Neuroscience*, 2015. Vol 9, P 1-9.
- 2) Rodríguez E.M., Blázquez J.L., Pastor F.E. et al. Hypothalamic tanycytes: a key component of brain-endocrine interaction. *Int Rev Cytol.*, 2005. Vol 247, No 89, P 164.
- 3) Robins S.C., Stewart I., McNay D.E. et al  $\alpha$ -Tanycytes of the adult hypothalamic third ventricle include distinct populations of FGF-responsive neural progenitors. *Nat. Communications*, 2013. Vol 4, No 2049.
- 4) Lee D.A. Tanycytes of the hypothalamic median eminence form a diet-responsive neurogenic niche. *Nat. Neurosci.*, 2012. Vol 15, No 5, P 700–702.
- 5) Haan N., Goodman T., Najdi-Samiei A. Fgf10-expressing tanycytes add new neurons to the appetite/energy-balance regulating centers of the postnatal and adult hypothalamus. *J. Neurosci.*, 2013. Vol 33, No 13, P 6170-6180.

## СМЕЩЕНИЕ ЗРИТЕЛЬНОГО ВНИМАНИЯ К ТРЕТИРУЮЩЕЙ ИНФОРМАЦИИ В ПЕРИОД ЭКЗАМЕНАЦИОННОГО СТРЕССА У ИСПЫТУЕМЫХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ВРАЖДЕБНОСТИ

*Астащенко А.П.<sup>1</sup>, Варварова С.И.<sup>1</sup>, Зяблова П.В.<sup>1</sup>, Дорохов Е.В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, Воронеж, Россия  
e-mail: [cerceal@rambler.ru](mailto:cerceal@rambler.ru)*

В современном развитом обществе различные проверочные работы и экзамены проводятся часто и для обучающихся являются основным источником психоэмоционального стресса [1]. Психоэмоциональный стресс может сопровождаться повышением уровня тревожности у человека. Многие исследователи отмечают, что существует взаимосвязь между враждебностью и тревожно-фобическими расстройствами. При тревожно-фобических расстройствах показатель враждебности значимо выше по сравнению с нормой [2]. Следует отметить, что само понятие «враждебность» трактуется различными авторами по-разному. В ранних исследованиях враждебность выступала синонимом таких понятий как «агрессия», «агрессивность», «гнев», «цинизм». А.В. Охматовская и С.Н. Ениколопов определяют враждебность как негативное отношение к каким-либо объектам [3]. Система зрительного внимания тревожных и настроенных враждебно людей может быть ненормально чувствительна к стимулам окружающей среды, несущим тревожное (третирующее) значение [4]. Фронтальная асимметрия активности мозга рассматривается в качестве биологического маркера регуляции эмоциональных процессов, где ведущую роль играет биоэлектрическая активность в частотном диапазоне  $\alpha$ - ритма электроэнцефалограммы (ЭЭГ, 8-13 Гц) [5]. В исследовании мы рассматриваем особенности биоэлектрической активности мозга - ЭЭГ у молодых здоровых волонтеров – студентов ВУЗа в процессе решения задач, связанных со смещением внимания к зрительной информации эмоционального содержания. У 39 молодых здоровых испытуемых (21±2 года) студентов медицинского университета изучали изменения мощности ритма альфа диапазона ЭЭГ и среднее время сенсомоторных реакций при выполнении когнитивных заданий на смещение внимания. Использовали психометрические тесты самоотчетов испытуемых: госпитальную шкалу тревоги и депрессии (HADS), опросник ВРАQ для диагностики склонности к агрессии, тест руки Вагнера. В текущем исследовании смещение внимания оценивалось с использованием нескольких задач: пробы с точкой - dot-probe tests и оценки времени появления стимула. Оценка времени появления стимула – это один из способов оценки внимания исходя из предположения, что внимание может быть выборочно направлено на определенные стимулы, исходя из значимости для человека, следовательно, (актуальные) соответствующие стимулы будут обрабатываться быстрее, чем неактуальные. Отсутствие разницы во времени опознания изображений как актуальных, так и неактуальных позволяет заключить, что стимулы обеих категорий получали равное внимание от испытуемых.

По результатам данных среднего времени сенсомоторных реакций пробы с точкой выборка испытуемых была разделена на 3 группы: 1 группа (n15) с быстрой реакцией на третирующую зрительную информацию (407±68 мс), по сравнению с нейтральной (434±64 мс),  $p=0,0006$ ; 2 группа (n8) с быстрой реакцией на нейтральную зрительную информацию (384±26 мс), по сравнению с третирующей (402±29 мс),  $p=0,01$ ; 3 группа (n16) со сходным временем реакции на тревожную и нейтральную зрительную информацию 417±54 мс и 419±55 мс,  $p=0,2$ . По данным психометрических исследований, первая группа испытуемых характеризовалась: субклиническими и клиническими уровнями тревожности (ср. баллы 13±2) и высокими уровнями гнева и враждебности (60±15%), тест руки Вагнера показал наличие выраженных агрессивных составляющих (ср. баллы 2±1).

Средняя мощность ритма  $\alpha$ -диапазона (мкВ<sup>2</sup>/Гц) в отведениях F4, F8 и F3, F7

|             | Фон глаза открыты |                | Фон глаза закрыты |                   | Задание 1<br>Проба с точкой |              | Задание 2<br>оценка времени<br>появления<br>нейтрального<br>стимула |                | Задание 3<br>оценка времени<br>появления<br>агрессивного<br>стимула |                |
|-------------|-------------------|----------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|--------------|---|----------------|---|----------------|
|             | F4,<br>F8         | F3, F7         | F4, F8            | F3, F7            | F4, F8                      | F3, F7       | F4, F8  | F3, F7         | F4, F8  | F3, F7         |
| группа<br>1 | 14±3<br>8±2       | 22±6*<br>16±5* | 65±13<br>42±10    | 110±33*<br>79±28* | 11±1<br>11±5                | 14±1<br>9±1  | 10±1<br>6±1   | 14±2*<br>11±2* | 12±1<br>8±1   | 19±4*<br>16±4* |
| группа<br>2 | 17±4<br>8±2       | 19±5<br>10±2   | 42±16<br>28±9     | 46±15<br>31±10    | 13±3<br>8±1                 | 15±3<br>10±1 | 9±2<br>6±1  | 11±2<br>7±1    | 12±3<br>7±2   | 14±3<br>9±2    |
| группа<br>3 | 11±2<br>9±1       | 14±2<br>11±2   | 76±21<br>50±13    | 81±20<br>57±14    | 13±1<br>9±1                 | 15±2<br>10±1 | 14±2<br>8±1   | 16±3<br>10±1   | 15±2<br>9±1   | 17±2<br>10±1   |

Достоверные отличия выраженности мощность ритма  $\alpha$ -диапазона слева, по сравнению с мощностью справа: \*  $p < 0.01$ .

Средняя мощность ритма  $\alpha$ -диапазона во фронтальных отведениях слева достоверно преобладала над мощностью справа для группы испытуемых с высоким уровнем враждебности. В литературе отмечается, что сходные данные или незначительные отличия среднего времени реакций испытуемых в пробах с точкой или в задачах оценки времени появления стимула на конгруэнтные или неконгруэнтные стимулы позволяют отнести таких испытуемых к группе с более адаптивным восприятием социальной среды. Испытуемые с достоверно быстрыми ответными реакциями на стимулы враждебного содержания характеризовались как люди с менее адаптивным восприятием среды. Существуют экспериментальные работы, где авторы связывают асимметрию ЭЭГ с эмоциональными процессами у человека, демонстрируют связь с индивидуальными возможностями к адаптации в специфической ситуации. Анализ ЭЭГ в данной работе показал, что выраженная мощность ритма альфа диапазона свидетельствует о высокой правосторонней активности мозга испытуемых первой группы, что наблюдалась также и в фоновой записи с открытыми глазами и закрытыми до начала экспериментальных сессий. Результаты исследования (данные психомоторных реакций и особенности асимметрии мощности ритма альфа диапазона во фронтальных отведениях) могут быть использованы в качестве биоэлектрических маркеров отклонений психоэмоциональных состояний на их ранних этапах развития у молодых людей.

#### Список цитируемой литературы:

1. Xiaocong Zhang, Yunying Dong, Renlai Zhou Examination Stress Results in Attentional Bias and Altered Neural Reactivity in Test-Anxious Individuals. Hindawi Neural Plasticity Volume 2018, Article ID 3281040, <https://doi.org/10.1155/2018/3281040>.
2. Epstein S. The self-concept revised, or a theory of a theory // American Psychologist. 1973, vol. 28, 404–416.
3. Ениколопов С.Н. Понятие агрессии в современной психологии. Прикладная психология. № 1, 2001, С. 60–72.
4. T. J. Barry, B. Vervliet, and D. Hermans, “An integrative review of attention biases and their contribution to treatment for anxiety disorders,” *Frontiers in Psychology*, vol. 6, p. 968, 2015.
5. Perez-Edgar K., Kujawa A., Nelson S. K., Cole C., Zapp D. J. The relation between electroencephalogram asymmetry and attention biases to threat at baseline and under stress // *Brain Cogn.* 2013. – №82(3). – P. 337–343.

## ИЗМЕНЕНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ КОРЫ МОЗЖЕЧКА В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ У БЕЛОЙ МЫШИ

*Белиал Е.С., Худякова Н.А.*

*Удмуртский государственный университет, Ижевск  
e-mail: eva.belial@mail.com*

Как известно, мозжечок отвечает за координацию движений, позу тела и равновесие. Одной из основных функций мозжечка является участие в координации произвольных и целенаправленных движений. В нашей лаборатории довольно подробно произведено картирование двигательных представительств (ДП) соматической и лицевой мускулатуры в коре мозжечка белой мыши, в то время как данный вопрос в онтогенетическом плане практически не изучен. Таким образом, целью нашей работы явилось изучение формирования ДП соматической и лицевой мускулатуры в коре мозжечка белой мыши в раннем постнатальном онтогенезе.

Работа была проведена на 48 нелинейных белых мышах возраста от 10 до 21 дня. В ходе работы они были поделены на группы 10 – 11 дней, 12 – 13 дней, 14 – 15 дней, 16 – 17 дней, 18 – 19 дней, 20 – 21 день, по 8 особей в каждой группе.

Цель работы: проследить изменение пороговых токов и формирование двигательных представительств лицевой и соматической мускулатуры в коре мозжечка в раннем постнатальном онтогенезе у белой мыши. Использовали методику внутрикорковой микростимуляции (ВКМС). Применяли стеклянные микроэлектроды, заполненные 1,5 М цитратом натрия, с кончиками, обломленными под микроскопом до диаметра 4-8 мкм и сопротивлением 1,0-2,5 МОм. Для ВКМС использовались короткие серии прямоугольных импульсов длительностью 0,4 мс, частотой 300 имп/с, по 7 импульсов в пачке, интенсивностью тока не более 100 мкА. Шаг погружения микроэлектрода составлял 0,5 мм. Для каждого животного строилась серия индивидуальных карт расположения двигательных представительств, измерялась их площадь. Достоверность различий оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни (для пороговых токов).

Ключевые слова: двигательные представительства, мозжечок, ранний постнатальный онтогенез, внутрикорковая микростимуляция, двигательные ответы, пороговые токи.

В нашей лаборатории длительное время изучаются двигательные представительства соматической и лицевой мускулатуры в коре и центральных ядрах мозжечка белой мыши [1]. В онтогенетическом плане данный вопрос практически не рассмотрен. Данной проблеме и посвящена данная работа. Исходя из цели, были поставлены следующие задачи: 1) С использованием методики внутрикорковой микростимуляции зафиксировать двигательные ответы и построить карты лицевых и соматических двигательных представительств у мышат в возрасте от 10 до 21 дня; 2) Изучить пороговые токи двигательных ответов. Для реализации поставленных задач были использованы 48 белых лабораторных мышей, разделенных на возрастные группы (10 – 11 дней, 12 – 13 дней, 14 – 15 дней, 16 – 17 дней, 18 – 19 дней, 20 – 21 день). Начиная с 10 дня раннего постнатального онтогенеза в ходе ВКМС с шагом 0,5 мм наблюдались двигательные ответы мышц передних и задних конечностей, аксиальной мускулатуры, мышц нижней челюсти и верхней губы, вибрисс и мышц двигающих ушную раковину. Наблюдались как комплексные двигательные ответы, так и сочетанные, отражающие функциональные возможности животного на каждом этапе постнатального онтогенеза. Сочетанный характер двигательных ответов заключался, например, в получении низкопорогового ответов мышц губы и контралатеральной ей передней конечности или в одновременном ответе ипсилатеральной передней конечности и контралатеральной задней. Двигательные ответы мышей возраста 10 – 11 дней (как соматические, так и лицевые ответы) наблюдаются на очень высоких токах микростимуляции (выше 100 мкА). Это говорит о незрелости коры мозжечка и не исключает затекания тока на подкорковые ядра. С 12

днем наблюдается достоверное ( $p < 0.05$ ) снижение пороговых токов, что свидетельствует о постепенном созревании клеток коры мозжечка, что, особенно низкие пороговые токи можно отследить в возрастных группах 16–18 дней. Немаловажным является тот факт, что в возрастной группе 20 – 21 день пороговые токи снова достоверно ( $p < 0.05$ ) повышаются по сравнению с пороговыми токами предыдущего периода и, на этот раз, до уровня взрослых животных [1]. Пороговые токи двигательных ответов лицевой и соматической мускулатуры имеют пределы нормы, как в мозжечке взрослого животного, у которого пороговые токи соматической мускулатуры равны 10 – 55 мкА, а лицевой мускулатуры – 10 – 50 мкА.

Обнаруженная динамика пороговых токов отражает изменение возбудимости клеток коры мозжечка в процессе созревания в раннем постнатальном онтогенезе и хорошо согласуется с данными динамики уровня медиаторов, обнаруживаемыми в коре мозжечка в раннем постнатальном онтогенезе [2]. А именно, Miranda-Contreras отмечает повышение уровня возбуждающих аминокислот аспартата и глутамата к 15 дню раннего постнатального онтогенеза в 3–4 раза по сравнению с предыдущей неделей постнатального онтогенеза и последующее снижение уровня глутамата к 30 дням (взрослые животные) в 2 раза. Уровень тормозных аминокислот по данным тех же авторов [2] у мышат в коре мозжечка в 15-дневном возрасте остается в 2 раза ниже, чем у взрослых животных. Преобладание возбуждающих медиаторов над тормозными делает возможным падение пороговых токов вызываемых внутрикорковой микростимуляцией двигательных ответов в возрасте 15–18 дней и наблюдаемую нами гипервозбудимость коры мозжечка в данном возрасте.

Также можно отметить некоторое запаздывание созревания коры мозжечка у белой мыши по сравнению с моторным неокортексом, где двигательные ответы конечностей и некоторых лицевых мышц на высокочастотную ВКМС присутствуют уже с 5 дня раннего постнатального онтогенеза [3].

Таким образом, на данном этапе исследования мы смогли сделать следующие выводы:

1) Обнаружено формирование лицевых двигательных представительств и двигательных представительств соматической мускулатуры с 10 – 11 дней раннего постнатального онтогенеза;

2) К 16 – 18 дням пороговые токи достигают минимума; 3) Согласование работы мозжечка с деятельностью других двигательных структур мозга происходит к 20 – 21 дню, и тогда наблюдаются пороговые токи, характерные для взрослого животного.

### **Список литературы:**

1. Esakov S.A., Pronichev I.V. Motor representations of facial muscles and vibrissae in cerebellar cortex of the white mouse *mus musculus* // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2001. V. 37. № 6. P. 642–647

2. Miranda-Contreras L., Da'vila-Ovalles R., Beni'tez-Di'az P., Pen'а-Contreras Z., Palacios-Pru E. Effects of prenatal paraquat and mancozeb exposure on amino acid synaptic transmission in developing mouse cerebellar cortex // Developmental Brain Research . 2005/V. 160 . P19 – 27

3. Худякова Н.А. Постнатальный онтогенез коркового контроля двигательных реакций белой мыши в норме и при депривации : Диссертация ... кандидата биологических наук : 03.00.13. Ижевск, 2003. 137 с.

# ВКЛАД МАТЕРИНСКОГО И ОТЦОВСКОГО ГЕНОМОВ В ФОРМИРОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ АББЕРАЦИЙ У *Drosophila melanogaster* В УСЛОВИЯХ СЛАБОГО СТАТИЧЕСКОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

Васильева С.А.<sup>1,2</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Медведева А.В.<sup>1</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>1</sup>

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>1</sup>

2 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена» Санкт-Петербург<sup>2</sup>  
e-mail: [Swetlana.gorohowa@yandex.ru](mailto:Swetlana.gorohowa@yandex.ru)

Проблема продолжительности жизни, особенностей медицинской помощи населению пожилого и старческого возраста становится все актуальнее в большинстве стран мира, в том числе и в России. С увеличением продолжительности жизни нейродегенеративные заболевания (НДЗ) выходят в развитых странах на ведущее место. При изучении причин возникновения нейродегенеративных заболеваний были выявлены в геноме «горячие точки» (повторяющиеся ДНК-последовательности), в которых с высокой частотой наблюдаются перестройки генетического аппарата, что влечет за собой развитие синдромов, в том числе изучаемого в лаборатории нейрогенетики Института физиологии им. И.П. Павлова синдрома Уильямса. Также выявлены двухцепочечные (ДЦ) разрывы ДНК, возникающие при матричных процессах и физиологической активности нейронов, вовлеченных в формирование памяти и обучения. Поскольку разрывы ДНК характеризуют как норму, так и патологию, а хромосомный мозаицизм значительно чаще встречается у лиц с различными заболеваниями (нервные и психические заболевания, аутоиммунные состояния) [1], то изучение механизмов формирования разрывов ДНК и их функциональных последствий позволит разработать способы уменьшения риска развития геномных болезней.

Использование животных моделей дает возможность изучать механизмы функциональных нарушений, лежащих в основе этих заболеваний, а также разрабатывать терапевтические подходы. Удобной моделью для исследования связи между организацией генома и архитектурой хромосом, реализуемой в когнитивных нарушениях, является дрозофила. В частности, линия *agnostic*, несущая мутацию по гену *limk1*. LIMK1 - ключевой фермент ремоделирования актина - участвует в клеточной сигнализации и узнает белки семейств рецепторов и ионных каналов. Мутация *agn<sup>ts3</sup>* локализована в пределах района 11В X-хромосомы дрозофилы, который содержит ген CG1848 для LIM-киназы 1. У линии *agnostic* наблюдается триада характерных для большинства НДЗ диагностических признаков: резкие дефекты памяти и обучения, нарушение локомоторного поведения и накопление в тканях мозга амилоидоподобных агрегатов [2].

За последние 50 лет сформировался новый значимый фактор окружающей среды - электромагнитные излучения (ЭМИ) антропогенного происхождения. Показано влияние ЭМИ различной интенсивности на все уровни организации живого от клеточного до организма в целом [3]. Помимо электромагнитных излучений антропогенного происхождения на биологические системы оказывает влияние такой стрессорный фактор, как слабое статическое магнитное поле (ССМП). Как известно, генезис всех биологических объектов происходит в магнитном поле Земли, которое в свою очередь обладает огромной проникающей способностью. Поэтому вопросы, связанные с реализацией различных форм поведения в условиях ССМП особенно актуальны [4].

Исследования в области изучения роли родительских геномов в экспрессии генов потомства показали необходимость учитывать материнский и отцовский эффект в построении прогностических моделей.

Работа проведена на животных из ЦКП Биокolleкция Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург). Материалом исследования служили следующие линии *Drosophila melanogaster*: Canton-S – линия дикого типа,  $agn^{ts3}$  – линия, несущая температурочувствительную (ts) мутацию по гену *limk1* и реципрокные гибриды: Canton-S  $\times$   $agn^{ts3}$ ;  $agn^{ts3}$   $\times$  Canton-S.

В настоящей работе на мутантной линии  $agn^{ts3}$  дрозофилы (модели синдрома Уильямса) с использованием реципрокных гибридов с линией дикого типа Canton-S был изучен вклад материнского и отцовского геномов в формирование перестроек хромосом, обусловленных ДЦ-разрывами и нарушениями митотического аппарата в норме и при стрессовом воздействии слабым статическим магнитным полем. Установлено патернное наследование: частоты хромосомных перестроек и ДЦ-разрывов, а также хроматидных мостов в анафазных нейробластах при стрессе в случае отцовской линии  $agn^{ts3}$ . В потомстве самок  $agn^{ts3}$  по материнскому типу наследуются нарушения митоза.

Подводя итоги можно сделать следующие выводы. 1) В потомстве самцов  $agn^{ts3}$  наблюдается отцовское наследование высокой частоты перестроек у гибридов F1. В нормальных условиях таким же образом наследуется низкий уровень ДЦ-разрывов, а при стрессе -- высокая частота формирования хромосомных мостов. 2) в потомстве самок  $agn^{ts3}$  выявлено материнское наследование у гибридов F1 *нарушений митоза, а именно* высокой частоты отставания хромосом в норме и при стрессе.

Таким образом, настоящее исследование позволило установить превалирующую роль отцовского генома в наследовании частоты хромосомных перестроек и ДЦ-разрывов в случае отцовской линии  $agn^{ts3}$ .

#### **Список цитируемой литературы:**

- [1] Iourov I.Y., Vorsanova S.G., Yurov Y.B. Chromosomal mosaicism goes global. *Mol. Cytogenet.* 2008. V.1. P. 1-26.
- [2] Nikitina E.A., Medvedeva A.V., Zakharov G.A., Savvateeva-Popova E.V. The *Drosophila agnostic* locus: involvement to formation of cognitive defects in Williams syndrome. *Acta Naturae.* 2014. V. 6(2). P. 53-61.
- [3] Дюжикова Н.А., Копыльцов А.В., Коршунов К.А., Лукьянов Г.Н., Пучкова В.А., Серов И.Н. Действие электромагнитного излучения высокой частоты и влияние резонаторо-преобразователей на частоту хромосомных aberrаций в клетках костного мозга самцов крыс линии Вистар. *Электромагнитное зондирование биологических сред.* 2018. Т. 23. № 1. С. 12 – 18.
- [4] Бучаченко А.Л. Магнитно-зависимые молекулярные и химические процессы в биохимии, генетике и медицине. *Успехи химии.* 2014. Т. 83. С. 1 – 12.

## ОПЫТ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕГИСТРАЦИИ НЕЙРОНОВ У КРОЛИКОВ БОЛЕЕ 2.5 ЛЕТ

**Васильева Л.Н., Бондарь И.В.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности Российской академии наук, Москва*  
e-mail: [luvasilieva@mail.ru](mailto:luvasilieva@mail.ru), [bondar@ihna.ru](mailto:bondar@ihna.ru)

Хроническая регистрация одиночных нейронов существует более 60 лет. Ее появление позволило расширить представления о роли отдельных нейронов при различных функциональных состояниях нервной системы. Еще в 70-е годы исследователи заметили, что на одном и том же электроде в разные дни регистрации можно наблюдать похожий паттерн разряда (Schmidt et al., 1976). Это наблюдение привело их к предположению, что в разные дни на электроде регистрируется активность одного и того же нейрона. Регистрация таких нейронов называется стабильной. Несмотря на наблюдения отдельных исследователей, отсутствовали формальные критерии для идентификации нейронов по их экстраклеточной активности. С начала 2000-х годов было предложено множество подобных критериев разными исследовательскими группами.

Стабильная регистрация открывает широкие перспективы перед исследователями. Во-первых, регистрация одних и тех же нейронов длительное время позволяет протестировать их свойства на огромном массиве стимулов. Как правило, число стимулов, которое можно предъявить животному, ограничивается длительностью экспериментальной сессии, однако, имея возможность регистрировать более одного дня, можно варьировать не только параметры зрительного стимула, если речь идет об изучении структур зрительного анализатора, но и использовать стимулы других модальностей. Во-вторых, благодаря этой методике можно существенно сократить число животных, необходимых для проведения эксперимента, тогда как количество получаемых данных увеличится. В-третьих, от стабильной регистрации выигрывает интерфейс мозг-компьютер, декодирующий программу управления внешним устройством из разрядов одиночных нейронов. Если нейроны присутствуют на записи длительное время, такое устройство в меньшей степени зависит от ежедневного обслуживания инженером.

В настоящем исследовании нам удалось регистрировать активность одиночных нейронов в экспериментах на кроликах в течение 2.5 лет, а также протестировать ответы нейронов на различные зрительные и слуховые стимулы.

Двум кроликам возрастом около 1.5 лет и массой 4.8 и 5.4 кг породы советская шиншилла в миндалину были имплантированы пучки по 32 микроэлектрода (диаметр одного микроэлектрода - 18 мкм). Пучки микроэлектродов были изготовлены авторами самостоятельно по протоколу Ю. Крюгера (Kruger et al., 2010). Длительность регистрации у одного кролика составила 72 дня, у другого - 964 дня. Во время сессии регистрации животное находилось в ящике для мягкой фиксации, где было предварительно приучено сидеть. Регистрацию нейрофизиологической активности проводили с помощью платы RHD2000 производства Intan Technologies (США). Частота оцифровки составляла 30 кГц, полоса пропускания - 1-7500 Гц. За время регистрации животным предъявляли черно-белые, цветные, звуковые стимулы. Зрительные стимулы предъявляли и в левый, и в правый глаза. В каждую сессию регистрации проводили измерение импеданса электродов.

Для анализа активности одиночных нейронов нативные данные подвергали частотной фильтрации в диапазоне 300-7500 Гц, выделяли отдельные спайки по порогу амплитуды и сортировали полученные участки данных с помощью метода главных компонент в программе Offline Spike Sorter. Полученные данные обрабатывали с помощью программ, написанных на языке Matlab. Для каждого канала рассчитывали параметры качества регистрации: число нейронов на одном канале, амплитуду ПД, отношение сигнал-шум. Стабильность регистрации



проверяли с помощью автоматического алгоритма, предложенного Д. Фрейзером и Э. Шварцем (Fraser, Schwartz, 2012), на основе формы спайка и параметров разряда нейронов.

На рисунке мы приводим пример нативных данных в пяти каналах, на которых импульсная активность нейронов сохранилась до последнего дня регистрации. На 4-й день после имплантации импульсная активность обнаруживается на каналах, но ее качество невелико и амплитуда потенциалов действия вырастает впоследствии. На 509 и 964 дни после имплантации пучка на большинстве отрезков записи хорошо заметны потенциалы действия высокой амплитуды.

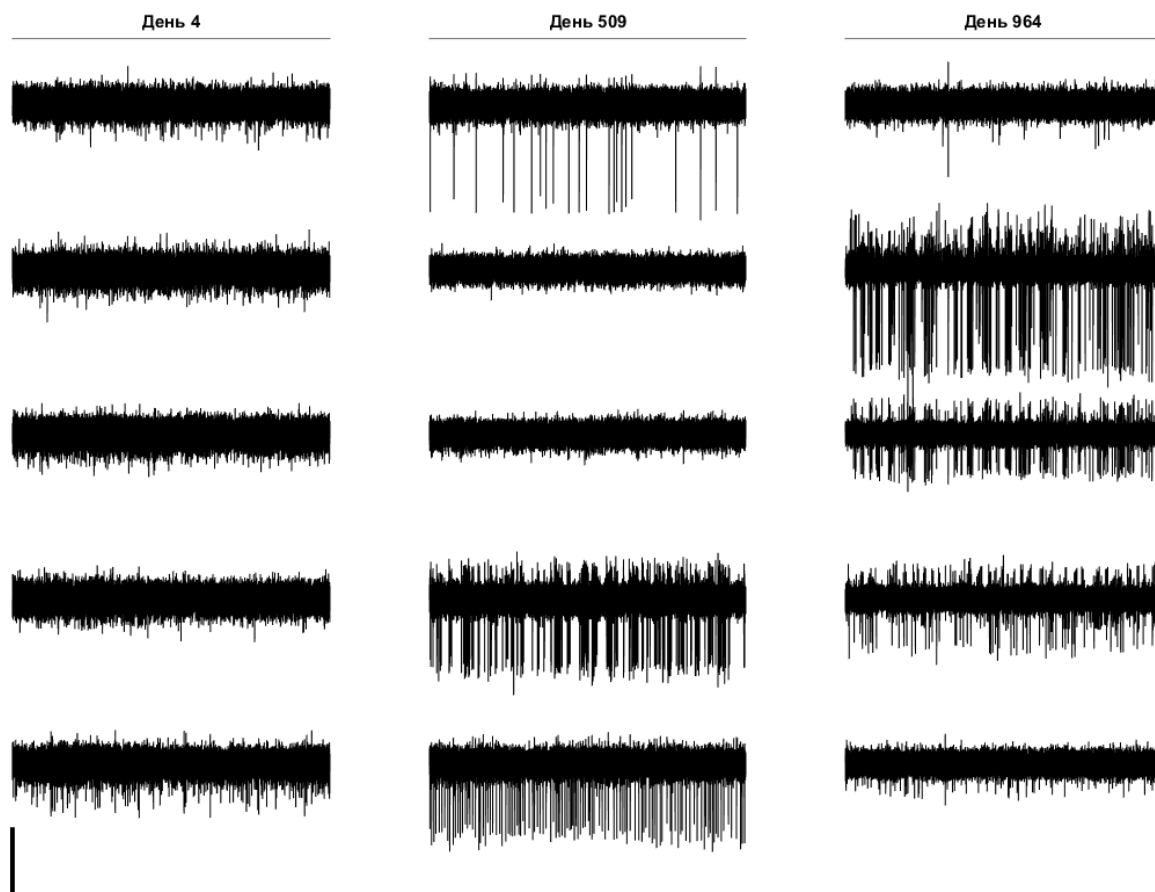


Рисунок. Нативный сигнал с одних и тех же 5 каналов у кролика 2 через 4, 509 и 964 дня после имплантации пучков микроэлектродов. Длина вертикального отрезка соответствует 100 мкВ потенциала, горизонтального - 1 с длительности записи.

Измерения импеданса проводили регулярно при проведении сессий регистрации. У кролика 1 мы получили тенденцию к снижению медианы импеданса, тогда как у кролика 2 подобной тенденции не наблюдается. Для кролика 1 характерно наличие в среднем одного нейрона на канале. У кролика 2 была более типичной ситуация с тремя кластерами на тех каналах, где выделялись нейронные потенциалы действия. Медиана амплитуды у кроликов 1 и 2 составила 70.1 мкВ и 73.6 мкВ, соответственно. Отношение сигнал-шум составило 4.0 в данных кролика 1 и 3.1 в данных кролика 2. Низкое значение сигнал-шум у кролика 2 мы связываем с тем, что регистрация его данных велась более длительное время. Самое существенное увеличение и падение числа нейронов происходило в первые 30 дней после имплантации, однако к 40 дню общее число одиночных нейронов стабилизировалось и в дальнейшем оставалось практически постоянным.

Благодаря анализу стабильности регистрации нам удалось исследовать ответы нейронов на стимулы различной модальности (зрительные и слуховые) и разнообразные типы зрительных стимулов: изображения, видео, черно-белые и цветные, исходные и

перемешанные. Используемая нами методика позволяет осуществлять длительную регистрацию активности одиночных нейронов хорошего качества и регистрировать эти нейроны стабильно.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 19-015-00349\_a.*

**Список цитируемой литературы:**

1. Fraser G.W., Schwartz A.B. Recording from the same neurons chronically in motor cortex. J. Neurophysiol. 2012. 107(7): 1970-1978.
2. Krüger J., Caruana F., Volta R.D., Rizzolatti G. Seven years of recording from monkey cortex with a chronically implanted multiple microelectrode. Front. Neuroeng. 2010. 28;3:6.
3. Schmidt E.M., Bak M.J., McIntosh J.S. Long-term chronic recording from cortical neurons. Exp Neurol. 1976. 52(3): 496-506.

## ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ФЛУОКСЕТИНА НА ПАМЯТЬ И ОБУЧЕНИЕ В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ

*Ефимова Д.И.<sup>1</sup>, Беляков В.И.<sup>2</sup>, Громова Д.С.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Московский городской педагогический университет», Самарский филиал

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика  
С.П. Королёва», Самара  
e-mail: grtmvadarja@rambler.ru

Депрессия является одним из наиболее распространенных психических расстройств. По данным ВОЗ на 2018 г. от нее страдает более 300 миллионов человек из всех возрастных групп.

Выбор эффективной лекарственной терапии депрессий представляет собой актуальную задачу современных фундаментальных и прикладных наук. Приоритетными являются препараты с минимальным количеством побочных эффектов и осложнений.

Наибольшей популярностью в современной практике пользуются селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), среди которых флуоксетин.

Флуоксетин также имеет и другие преимущества: безопасность, хорошая переносимость [2], доступность. Назначение данного препарата на сегодняшний день выходит далеко за пределы лечения и профилактики депрессий. Антидепрессант используют при лечении мигрени [3], хронического болевого синдрома [4], нарушении пищевого поведения, бессоннице и т.д. На сегодняшний день известность данного антидепрессанта настолько велика, что отмечена даже тенденция его использования без назначения врача. Однако, именно повсеместное использование и доступность данного лекарственного средства требует более детального изучения его действия на организм. Именно это определило проведение нами пилотного исследования, цель которого – изучить влияние флуоксетина на особенности памяти и обучения здоровых крыс в модельном эксперименте.

Эксперимент проводился на половозрелых нелинейных крысах-самцах массой 230-250 грамм. До начала исследования все животные тестировались с использованием методики «Лабиринт Барнс». Регистрировали время нахождения «спасательного ящика». Повторное тестирование ( $T_2$ ) проводили через 3 минуты. На следующем этапе всем животным ежедневно в течение трёх суток перорально вводили раствор флуоксетина (Россия, ЗАО Биокон) в дозе (5 мг/кг), после чего животных вновь тестировали в «Лабиринте Барнс». Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием программы SigmaStat 6.0.

Использование флуоксетина отразилось на особенностях памяти и обучения животных. Особенно значительные изменения наблюдались при повторном тестировании ( $T_2$ ).

При первом помещении животных в условия тестовой площадки до введения препарата среднее время нахождения убежища составило  $154,8 \pm 36,5$  сек, в то время, как после введения флуоксетина данный показатель вырос до  $179,3 \pm 1,2$  сек. При повторном тестировании ( $T_2$ ) данный показатель составил  $92,5 \pm 53,3$  сек и  $170,8 \pm 21,0$  сек соответственно.

Кроме того, у крыс на фоне приёма препарата отмечалось значительное снижение двигательной активности. Регистрировалась низкая динамика передвижения животных по платформе и низкая скорость перемещения между ячейками.

По данным литературы, в механизмах памяти значительное участие принимает серотонинергическая система головного мозга [1]. Предполагается, что возможным механизмом анксиогенного эффекта селективных ингибиторов обратного захвата серотонина у интактных животных является повышение уровня нейромедиатора в синаптической щели и активация 5-НТ<sub>2C</sub> серотониновых рецепторов. Имеются также данные о тормозном механизме 5-НТ в механизмах двигательной активности.

Таким образом, флуоксетин вызывает ухудшение памяти у здоровых животных. Эти данные не согласуются с общепринятыми в клинике представлениями о том, что антидепрессанты не оказывают психотропного влияния на здоровый организм, а вызывают только коррекцию психопатологии.

Полученные данные требуют более детального рассмотрения и могут лечь в основу дальнейшего изучения механизмов действия СИОЗС.

**Список цитируемой литературы:**

1. Арана Дж, Розенбаум Дж. Фармакотерапия психических расстройств. Под ред. С.Н. Мосолова. Москва: БИНОМ; 2004. 416 с.
2. Куделина О.М., Назаров В.Б., Макляков Ю.С., Хлопонин Д.П., Заика В.Г. Экспериментально-клинический анализ сравнительного влияния Вальдоксана и Флуоксетина на параметры фармако-ЭЭГ // Биомедицина. №1. 2015. С. 24-35
3. Макаров С.А., Филатова Е.Г. Антидепрессанты в профилактике мигрени // Медицинский алфавит. 2017. Т.2. № 15. С. 33-40
4. Чахава К.О., Аведисова А.С., Ершова Е.М. Антидепрессанты при хроническом болевом синдроме // Российский психиатрический журнал. 2004. № 2. С. 61-67

# ВЛИЯНИЕ ГЕНА *limk1* НА СПОСОБНОСТЬ К ОБУЧЕНИЮ У *Drosophilamelanogaster* В ПАРАДИГМЕ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОГО ПОДАВЛЕНИЯ УХАЖИВАНИЯ

Заломаева Е.С.<sup>1,2,3</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Журавлев А.В.<sup>2</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН  
e-mail: [Zalomaeva.E@yandex.ru](mailto:Zalomaeva.E@yandex.ru)

В настоящее время одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является понимание этиологии и прогрессирования различных нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и другие. Данные заболевания являются результатом сложного взаимодействия неблагоприятных внешних факторов, а также индивидуальных особенностей генома, предрасполагающих к развитию болезни. Важнейшую роль в обеспечении пластичности нервной системы играет реорганизация актинового цитоскелета. Ключевым ферментом данного процесса является LIMK1 (Vamburg, Bloom, 2009). Это многофункциональный белок, который регулирует организацию актинового цитоскелета путём сложных биохимических реакций. Одним из свойств, присущих НДЗ, является образование кофилин-актиновых комплексов в нейронах, что нарушает везикулярный транспорт. Анализ нуклеотидной последовательности гена *limk1* *D. melanogaster* выявляет 71% гомологии с геном *limk1* *H. sapiens*. В связи с этим *D. melanogaster* является наиболее удобным модельным объектом для осуществления данного исследования (Reiter et al., 2001).

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

Материалы и методы исследования. В работе использовали линии *Berlin* и *Oregon-R Drosophilamelanogaster*, полиморфны по гену *limk1*, для которых ранее показано нарушение способности к обучению (Никитина и др., 2014). Способность к обучению и формированию краткосрочной памяти оценивали методом условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) самца за оплодотворенной самкой. Исследование проводили на взрослых 5-суточных самцах. Обучение и тестирование проводили в специальных камерах из оргстекла. Для выработки УРПУ (тренировки) 5-суточного самца, не имеющего опыта полового поведения, помещали в камеру вместе с оплодотворенной самкой дикого типа *CS* и оставляли на 30 минут. Поведение ухаживания анализировали у наивных самцов и у самцов спустя 0 минут (сразу после) и спустя 30 минут после обучения. Поведение самца регистрировали с помощью специальной программы в течение 300 секунд, фиксируя время начала отдельных элементов ухаживания (ориентация и преследование, вибрация, попытка копуляции), а также время исполнения элементов, не связанных с ухаживанием (активность (побежка), прининг, покой). Для расшифровки и анализа данных использовали специально разработанные компьютерные программы (автор – Н.Г. Камышев). Для каждого самца вычисляли индекс ухаживания (ИУ), т.е. время ухаживания самца за самкой, выраженное в процентах от общего времени наблюдения. Для количественной оценки результатов обучения вычисляли индекс обучения (ИО). Статистический анализ проводили с использованием двустороннего теста рандомизации. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы принимали равным вероятности не менее 95% ( $p \leq 0,05$ ).

Результаты исследования. У мух линии *Berlin* сразу и через 30 минут после тренировки наблюдали достоверное снижение ИУ на 73% и 41%, соответственно по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). ИО у мух через 0 и через 30 минут после тренировки достоверно не

отличались друг от друга, но достоверно отличались от нуля ( $p < 0,05$ ). У линии *Oregon-R* достоверных различий между ИУ наивных и обученных мух не было выявлено. ИО у мух через 0 и через 30 минут после тренировки достоверно не отличались друг от друга и от нуля. При этом наблюдается достоверное различие между ИО мух разных линий. Так, ИО мух линии *Berlin* был в 3,5 раза больше ИО мух линии *Oregon-R* сразу после обучения ( $p < 0,05$ ), и в 4,5 раза больше через 30 минут после обучения (см. рисунок 1).

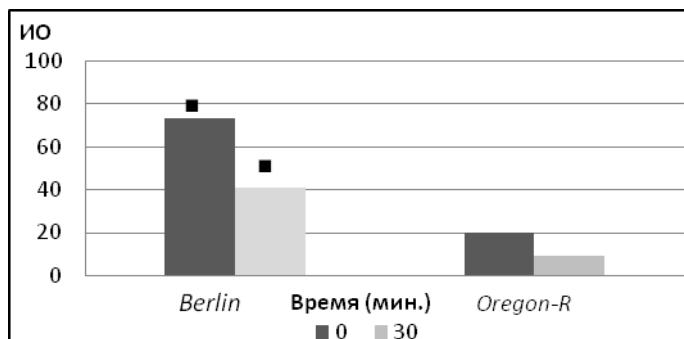


Рисунок 1. Индекс обучения у мух линий *Berlin* и *Oregon-R*.  
 ■ ИО достоверно отличается от 0 (нулевая линия); ( $p < 0,05$ )

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

#### Список цитируемой литературы:

1. Никитина Е.А., Каминская А.Н., Молотков Д.А., Попов А.В., Савватеева-Попова Е.В. Влияние теплового шока на обучение, формирование памяти и содержание LIMK1 в мозге самцов *Drosophila melanogaster* с измененной структурой гена *limk1* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. - 2014. - Т. 50. № 2. - С. 137 – 147.
2. Vamburg J.R., Bloom G.S. Cytoskeletal pathologies of Alzheimer disease // Cell Motil. Cytoskeleton. - 2009. - V. 66. № 8. - P. 635-649.
3. Reiter L.T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E. A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster* // Genome Res. - 2001. - V. 11. № 6. - P. 1114-1125

## ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА ДЕТЕЙ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ ПО ЭФФЕКТАМ ФОТОСТИМУЛЯЦИИ

***Зарипов К.А., Нагорнова Ж.В.***

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова  
Российской академии наук, г. Санкт-Петербург  
Zaripovkarim@gmail.com*

Комплексное воздействие суровых природно-климатических факторов северных территорий и сложных социально-бытовых условий оказывает негативное влияние на здоровье населения, наиболее уязвимыми при этом оказываются дети. В этой связи изучение закономерностей развития организма ребенка и выявление механизмов, которые обеспечивают приспособительный характер развития на разных этапах онтогенеза, необходимо для решения проблем охраны здоровья детей и подростков, раннего выявления нарушений развития и разработки адекватных методов их коррекции (Новиков, Сороко, 2017).

Одним из доступных и информативных методов исследования является электроэнцефалография. Это метод изучения функционального состояния коры головного мозга человека. В ЭЭГ покоя не всегда выявляются признаки патологии, поэтому используют различные функциональные нагрузки для выявления патологической активности и оценки устойчивости НС. В частности, в клинической электроэнцефалографии применяется «ритмическая фотостимуляция» для оценки устойчивости к внешним ритмам (Поворинский, Заболотных, 1987). Ритмическая фотостимуляция (РФС) — это стимуляция вспышками света определенной частоты. Частоты подаются с определенным шагом и с повторяющимися по длительности периодами фотостимуляции и отдыха. В ходе ритмической фотостимуляции в ЭЭГ человека может возникать реакция усвоения ритма – то есть, в ЭЭГ появляются «навязанные» частоты, соответствующие ритму стимуляции или гармоника, кратные по частоте ритму стимуляции. Согласно данным отечественных физиологов (Фарбер, Алфёрова, 1972) по характеру усвоения частот можно судить о функциональном состоянии коры головного мозга человека и ребенка. В разные возрастные периоды развития у детей усваиваются разные частоты. В частности, у новорожденных усваиваются медленные частоты, по мере взросления и созревания - уже у школьников усваиваются более высокие частоты. Наилучшим образом усвоение ритма на ЭЭГ представлено в проекции корковой зоны зрительного анализатора (то есть: в затылочных зонах).

Цель исследования состояла в оценке функционального состояния ЦНС (на основе ЭЭГ проб с ритмической фотостимуляцией), изучении и сравнении особенностей усвоения ритмов детьми-северянами, развивающимися и проживающими в разных регионах РФ. Также планировалось проанализировать взаимосвязи между реакцией усвоения ритма в ЭЭГ (спектр усваиваемых частот) и характеристиками фоновой ЭЭГ у детей разных возрастов.

В данном конкретном исследовании ставилась задача оценить динамику изменения мощности медленных частот (3, 5, 7 Гц) ЭЭГ, как в фоновых состояниях с закрытыми глазами, так и при фотостимуляции соответствующими частотами у детей разных возрастов. Также проводилась оценка динамики изменения пиковой частоты альфа ритма ЭЭГ (8-13.5 Гц) и его мощности по возрастам внутри каждой группы школьников.

В исследовании принимали участие школьники 4-11 класс (всего 109 человек), проживающие в поселках Мурманской (п.Ловозеро- 68°02'с.ш. 35°00'в. д.), и Архангельской (Коношский район, деревня Климовская, 60°51'с.ш., 39°31'в.д.) областей—60и49 школьников соответственно.

Все исследования проводились с учетом требований Хельсинской Декларации 1964г и дальнейшими ее поправками, родители детей в обязательном порядке давали письменное согласие на участие в исследованиях, помимо этого школьники принимали участие в исследованиях добровольно.

ЭЭГ регистрировали монополярно от 31 отведения с использованием многоканального электроэнцефалографа Мицар-202 (ОООМицар, СПб) согласно модифицированной системе 10-10 наложения электродов. В качестве референтного использовали объединенный ушной электрод. Частота дискретизации прибора составляла-500 Гц. Часть данных регистрировали прибором ЭЭГА-21/26 "Энцефалан-131-03" от 19 отведений согласно международной 10-20 (Jasper, 1958). Частота дискретизации прибора составляла-250Гц. В дальнейшем все записи с прибора Мицар децимировались до 250 Гц.

ЭЭГ регистрировали в состояниях покоя (открытые/закрытые глаза), не менее трех минут каждая запись и в условиях ритмической фотостимуляции. Фотостимуляция проводилась белым светом при закрытых глазах в полосе частот от 3 Гц до 27 Гц. Время импульсации каждой частоты составляло 10-15с, интервал между частотами фотостимуляции составлял— 5с. В данной работе рассматриваются эффекты фотостимуляции частотами 3, 5 и 7 Гц и характеристики фоновой ЭЭГ с закрытыми глазами.

Данные испытуемых с большим количеством артефактов были исключены из анализа. Вычисляли спектральные мощности ЭЭГ для частот фотостимуляции - 3 Гц (2.5-3.5Гц), 5 Гц (4.5-5.5 Гц), 7 Гц (6.5-7.5.Гц) и для кратных им гармоник 6, 9 Гц, 10, 15 Гц, 14, 21 Гц соответственно. С помощью простой регрессионной модели оценивали динамику мощности указанных частот в затылочном отведении Oz для каждой группы испытуемых с учетом их возраста. Данные приводятся с учетом  $p < 0.05$ .

Согласно предварительным результатам (лин. регресс. анализ) в обеих группах испытуемых с возрастом снижается как мощность ЭЭГ фонового состояния в диапазоне рассмотренных низких частот, так и мощность навязанных низких частот и кратных им гармоник ЭЭГ в ответ на ритмическую фотостимуляцию, что соответствует особенностям нормального возрастного развития. В обеих группах также не было выявлено снижения мощности высокочастотных гармоник (14, 15 Гц) с возрастом. Интересный эффект был зафиксирован при фотостимуляции 7 Гц: в группе детей из Приполярного региона отсутствовало снижение мощности частот 10 Гц с возрастом, а в группе из Заполярного региона —снижение мощности этой частоты с возрастом наблюдалось.

Анализ пиковой частоты альфа ритма в фоновых ЭЭГ детей с закрытыми глазами в обеих группах продемонстрировал достоверное (проживающие в Мурманской обл.:  $r = 0.31$ ;  $p = 0,018$ ; Архангельской обл.:  $r = 0.38$ ;  $p = 0,008$ ) увеличение частоты пика с возрастом. При этом значимого изменения мощности ЭЭГ для пика альфа ритма в обеих группах выявлено не было. Полученные результаты требуют дополнительного рассмотрения и анализа с учетом особенностей индивидуального реагирования детей из разных регионов на условия фотостимуляции. Полученные данные являются предварительными. Предполагается, что в дополненном варианте полученные наблюдения могут быть использованы для создания нормативной базы данных выборки здоровых школьников.



**Список цитируемой литературы:**

1. Поворинский А.Г., Заболотных В.А. Пособие по клинической электроэнцефалографии. Л.: Наука. 1987.
2. Фарбер Д. А., Алфёрова В.В. Электроэнцефалограмма детей и подростков. М.: Педагогика. 1972.
3. Новиков В. С., Сороко С. И. Физиологические основы жизнедеятельности человека в экстремальных условиях. СПб: Политехника-принт. 2017.
4. Jasper H.H. The ten-twenty electrode system of the International Federation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.*1958. 10:371-375

# ОСОБЕННОСТИ БРАЧНОЙ ПЕСНИ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ ЛИНИЙ *Canton-S* И *cardinal* В НОРМЕ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИОКСИДАНТА

Иванова П.Н.<sup>1,2</sup>, Журавлев А.В.<sup>2</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>2</sup>

РГПУ им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург<sup>1</sup>  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург<sup>2</sup>  
e-mail: ivanovapolina19@mail.ru

Дисфункции кинуренинового пути обмена триптофана (КПОТ) наблюдаются при развитии ряда нейропатологий, а также при депрессивных и тревожных расстройствах. Активация КПОТ в ЦНС млекопитающих при воспалениях и стрессе является адаптивным механизмом: накопление ряда кинурениновых метаболитов оказывает анксиогенный эффект. Аутоокисление 3-гидроксикинуренина (ЗНОК) также служит источником активных форм кислорода (АФК), важных для развития иммунного ответа. Вместе с тем гиперактивность КПОТ может приводить к развитию нейродегенеративных процессов, в частности, вследствие накопления ЗНОК и гиперпродукции АФК, вызывающих гибель нейронов по пути апоптоза. Моделью КПОТ-зависимой сенильной деменции на дрозофиле служит мутант *cardinal* (*cd*). Так, ранее было показано развитие у *cd* нарушений среднесрочной памяти начиная с 12 сут. взрослой жизни [1]. Для стареющих *cd* (29 сут.) показано нарушение брачной песни самца при ухаживании за самкой — искажение формы импульсов, увеличение числа полициклических импульсов [2]. В тканях голов 5-21 сут. *cd* наблюдается снижение общей антиоксидантной активности [3]. Вышесказанное указывает на ключевую роль АФК в развитии нейропатологий у *cd*. Предполагается, что воздействие антиоксидантов должно предупреждать развитие у этой линии окислительного стресса. В данной работе мы исследовали влияние синтетического антиоксиданта на комплекс параметров брачной песни самца *cd*. В работе использовали мух линий *Canton-S* (*CS*; *BDS*C #1) и *cardinal* (*cd*[1], *BDS*C #3052), предоставленных ЦКП «Биоколлекция Института физиологии им. И.П. Павлова РАН». Мухи линии *cd*[1] были приведены к генетическому фону *CS* путем 9 скрещиваний. Мух содержали на стандартной пищевой среде в 25 °С при 12/12 ч. цикле «свет/темнота». При тестировании действия антиоксиданта на звукопродукцию использовали водорастворимый конъюгатполиэтиленгликоля (PEG, M 6800) с фенолпроизводным антиоксидантом 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислотой (DTCA; соотношение DTCA/PEG по массе 7,1 %, рабочая концентрация конъюгата 10<sup>-6</sup> M). Антиоксидант добавляли в пищевую среду на всех стадиях жизни мухи: от откладки яйца до достижения возраста постановки эксперимента. Самцов дрозофилы после вылета из куколки содержали в стаканах поодиночке. Тестирование самца проводили в экспериментальной камере с оплодотворенной самкой линии *CS*. Запись осуществляли в течение 5 мин в звукоизоляционном боксе с использованием специальных микрофонов, чувствительных к скорости смещения частиц в среде, регистрируя звуки в полосе 100 — 800 Гц. Анализ брачной песни самца проводили с помощью программы *DrosophilaCourtshipSongAnalysis* (KamyshevN.G., 2009). Статистический анализ данных осуществляли с помощью двустороннего теста рандомизации ( $p < 0,05$ ;  $n = 19-21$ ). У 5 сут. самцов линии *cd* средний межимпульсный интервал (МИ) существенно меньше, чем у дикого типа *CS* (33,8 vs 37,5 мс). МИ является важным параметром брачной песни, по которому самка дрозофилы опознает принадлежность самца к своему виду; для различных популяций он варьирует, составляя в среднем порядка 35 мс. При этом длительность импульса и количество циклов в импульсе у *cd* выше. Антиоксидант нивелирует межлинейную разницу в числе циклов импульсов и длительности импульсов. Для иных параметров в норме достоверных различий не наблюдается, хотя имеется тенденция общего повышения у *cd* интенсивности

звукопродукции. Вместе с тем воздействие антиоксиданта по целому ряду параметров не уменьшает межлинейную разницу, а наоборот, увеличивает ее в пользу *cd*. К числу таковых относятся: индекс импульсной песни (% от общего времени), частота инициации импульсных посылок ( $N/100$  с), число импульсов в посылке ( $N$ ). Интервал между посылками (с), а также период от начала одной посылки до начала следующей (с) при воздействии PEG-DTCA у *cd* меньше, чем у *CS*. Ни в одном из этих случаев, однако, не показано достоверного влияния антиоксиданта на звукопродукцию для отдельно взятых линий. Таким образом, для разного типа параметров звукопродукции показано разнонаправленное влияние PEG-DTCA на 5 сут. *CS* и *cd*. Для параметров, характеризующих длину и частоту импульсных посылок, антиоксидант усиливает межлинейные различия в пользу мутантной линии. Сходное мы наблюдали при анализе спонтанной локомоторной активности *CS* и *cd*, где воздействие PEG-DTCA проявлялось в первую очередь как увеличение межлинейной разницы в пользу *cd*. Для параметров же, характеризующих длительность и форму отдельно взятых импульсов, антиоксидант устраняет межлинейные различия. Возможно, имеют место два принципиально разных механизма действия антиоксиданта PEG-DTCA: а - общую интенсивность звукоизлучения у *cd* (активация) и б - тонкую структуру импульсной песни (компенсация). Поскольку у стареющих *cd* наблюдается в первую очередь искажение формы импульсов, можно предполагать, что антиоксидант на поздних сроках жизни дрозофил будет оказывать сходное влияние на *cd*, предупреждая токсическое воздействие АФК на пейсмейкеры импульсной песни.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-0076.*

#### **Список литературы:**

1. Savvateeva E., Popov A., Kamyshev N., Bragina J., Heisenberg M., Senitz D., et al. Age-dependent memory loss, synaptic pathology and altered brain plasticity in the *Drosophila* mutant cardinal accumulating 3-hydroxykynurenine. *J Neural Transm.* 2000; 107: 581–601. <https://doi.org/10.1007/s007020070080>. PMID: 11072753.
2. Ильина Е.Л., Попов А.В. Акустическая коммуникация и половое поведение у насекомых. *Экологическая генетика.* 2007. Т. V. № 4. С. 11-15.
3. Zhuravlev A.V., Vetrovoy O.V., Savvateeva-Popova E.V. Enzymatic and non-enzymatic pathways of kynurenines' dimerization: the molecular factors for oxidative stress development. *PLoS Comput Biol.* 2018. 14(12): e1006672.

# ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ РЕТРОСПЛЕНИЯЛЬНОЙ КОРЫ МЕТОДОМ ОПТОВОЛОКОННОЙ ФОТОМЕТРИИ ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ НОВОГО ПРОСТРАНСТВА И ОБЪЕКТОВ У МЫШЕЙ

*Ивашкина О.И., Рогожникова О.С., Торопова К.А., Федотов И.В.*

*Институт перспективных исследований мозга  
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова  
e-mail: osrogozhnikova@gmail.com*

Известно, что животные распознают пространство и расположенные в нём объекты и способны на длительное время запоминать эту информацию [3]. При этом, критически важным определением областей мозга и их нейрональных ансамблей, в которых происходит обработка информации об объектах как об отдельных элементах пространства и преобразование однажды усвоенной пространственной когнитивной карты относительно положения животного в пространстве. Так, на сегодняшний день считается, что ретроспленальная область коры (РСК) обеспечивает связь между восприятием объекта и пространством, в котором он находится [1]. РСК активируется в задачах на распознавание типа объектов [4, 7], однако при удалении РСК наблюдается нарушение восприятия объектов-контексте, но не самих объектов [5, 11].

Для дальнейшего изучения вопроса нейрональных основ процессов восприятия пространственных элементов среды в нашей работе мы проводили регистрацию активности РСК при свободном обследовании мышами нового пространства. После обследования животными пустой арены с нанесёнными (настенными) зрительными ориентирами им предъявляли в этой же арене два типа объектов в двух типах задач: распознавание на арене нового объекта и распознавание изменения положения уже знакомого объекта. Известно, что мыши контактируют с новыми объектами значительно дольше, чем с уже знакомыми [8,9], в связи с чем соответствующим критерием изменения поведения мыши являлась длительность контакта с объектом (нюхает; трогает; сидит рядом).

Анализ динамики активности РСК мы проводили методом оптоволоконной фотометрии флуоресцентной активности кальциевого сенсора GCaMP6s, доставка генного материала которого осуществлялась проведением микроинъекции в РСК вирусных частиц аденоассоциированного вируса [2, 10]. Экспрессированный на мембране нейронов РСК кальциевый сенсор флуоресцирует в случае одновременного изменения концентрации внутриклеточного кальция и облучения рабочей области лазерным излучением с длиной волны в 473 нм через размещённый на голове животного оптовод.

Для статистической обработки данных выделяли фоновый шум методом расчёта скользящего среднего, относительно которого выделяли повышенную активность регистрируемых зон. Массив данных о величине относительного изменения сигнала ( $df/f$ ) и соответствующего ему изменения поведения животного анализировали на предмет возможной корреляции событий.

В ходе выполнения работы нами был обнаружен рост активности нейронов РСК в виде увеличения числа регистрируемых значимых кальциевых событий при обследовании пространства с объектами нового типа или в новом месте с неизменной величиной средней амплитуды регистрируемого пика. Не было показано изменения активности РСК в

зависимости от того, какой именно объект животное обследовало: знакомый объект, объект нового типа или перемещённый в рамках арены объект.

На основании группы работ с инактивацией или разрушением РСК, в которых было показано нарушение памяти в задаче распознавания объектов [11, 6], нами было выдвинуто предположение о существовании в РСК специфической активности, связанной с обследованием объектов. Такая специфичность активности РСК по отношению к объектам в среде действительно была обнаружена нами в ходе выполнения работы. Однако, вопреки нашим ожиданиям, оказалось, что специфическая активность РСК, сопровождавшая активное обследование объектов, не увеличивалась, а уменьшалась, что выражалось в снижении количества пиков суммарного кальциевого ответа. В связи с тем, что с помощью использованного метода оптоволоконной фотометрии возможна регистрация только совокупного кальциевого ответа целой популяции нейронов, полученные нами данные не позволяют полностью опровергнуть выдвинутое предположение, так как даже при снижении суммарной активности в РСК всё равно могут существовать нейроны, специфически активирующиеся в связи с обследованием объектов.

В работе впервые было показано специфическое изменение суммарной активности нейронов РСК при обследовании животными нейтральных объектов. Однако для понимания функциональной роли нейронов РСК в кодировании пространства и объектов необходимы дальнейшие исследования. В частности, важным представляется изучение синхронизации активности РСК с другими системами обеспечения пространственного поведения (например, гиппокампом и парагиппокампальной областью), а также использование подходов, позволяющих исследовать активность РСК с клеточным разрешением — например, методами однофотонной минимикроскопии или двухфотонной микроскопии.

*Работа поддержана грантами РФФИ №17-04-02054 и №18-32-20212.*

### **Список цитируемой литературы:**

1. Минеева О.А., Безряднов Д.В., Чехов С.А., Сварник О.Е., Анохин К.В. Интегративные функции ретроспленальной коры: данные анатомии, коннектомики и клеточной электрофизиологии у крыс. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2019; 13(1): 47–54.
2. Желтиков А. М. Нелинейная оптика микроструктурированных волокон. *Успехи физических наук*. 2004. Т. 174. № 1. С. 73-105.
3. Antunes M., Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications // *Cognitive processing*. 2012. Т. 13. № 2. P. 93-110.
4. Bilalić M., Lindig T., Turella L. Parsing rooms: the role of the PPA and RSC in perceiving object relations and spatial layout. *Brain Structure and Function*. 2019. С. 1-20.
5. Buckley M. J., Mitchell A. S. Retrosplenial cortical contributions to anterograde and retrograde memory in the monkey. *Cerebral Cortex*. 2016. Т. 26. №. 6. С. 2905-2918.
6. Cooper, Mizumori, 2001
7. Crafa D., Hawco C., Brodeur M. B. Heightened Responses of the Parahippocampal and Retrosplenial Cortices during Contextualized Recognition of Congruent Objects. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2017. Т. 11. P. 232.
8. Ennaceur A., Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural brain research*. 1988. Т. 31. № 1. P. 47-59.
9. Ennaceur A. One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behavioural brain research*. 2010. Т. 215. № 2. P. 244-254.

10. Luo Y. J., Li Y. D., Wang L., Yang S. R., Yuan X. S., Wang J., Huang Z. L. Nucleus accumbens controls wakefulness by a subpopulation of neurons expressing dopamine D 1 receptors. *Nature communications*. 2018. T. 9. № 1. P. 1576.
11. Vann S. D., Aggleton J. P. Extensive cytotoxic lesions of the rat retrosplenial cortex reveal consistent deficits on tasks that tax allocentric spatial memory. *Behavioral neuroscience*. 2002. T. 116. № 1. P. 85.

## СЛУХОВЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ В УСЛОВИЯХ МАСКИРОВКИ

*Саликова Д.А<sup>1</sup>, Петропавловская Е.А<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский Государственный Университет*

<sup>2</sup>*Институт Физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург  
e-mail:diana0298@mail.ru*

В естественной среде слуховая система постоянно воспринимает и анализирует звуки, одновременно приходящие из разных источников. Используя эффект маскировки, можно добиться изменения чувствительности к одному сигналу в присутствии другого или к отдельным признакам сигнала (громкость, тембр, воспринимаемое положение источника звука в пространстве). Влияние маскера на воспринимаемые характеристики маскируемого сигнала зависит от способности слуховой системы разделять информацию, приходящую одновременно от разных источников.

Целью данного исследования является изучение слуховых вызванных потенциалов в ответ на включение звука (EOR, energy - onsetresponse) и в ответ на движение звука (MOR, motion - onsetresponse) в условиях маскировки в зависимости от положения маскера.

В эксперименте принимали участие правши в возрасте от 18 до 45 лет с нормальным слухом, без неврологических и отологических заболеваний. В качестве звуковых стимулов использовались шумовые послышки (100-10000 Гц), которые предъявлялись бинаурально, непосредственно к барабанной перепонке, через звукоизлучатели с ушными вкладышами. Различное положение и движение звуковых образов создавалось за счет межшумных различий по интенсивности.

Тестовые стимулы общей длительностью 2000 мс состояли из трех последовательных участков: стационарный сигнал (1000 мс), движение (200 или 400 мс) и снова стационарный сигнал (800 или 600 мс). Такая структура стимула позволяет зарегистрировать вызванные потенциалы на начало звучания и начало движения. Тестовые стимулы перемещались от левого/правого уха к средней линии головы или в обратном направлении. На протяжении одной эпохи анализа один и тот же тестовый стимул повторялся трижды с промежутком 770 мс между предъявлениями.

Стационарный маскер длительностью 9070 мс в разных сериях располагался по средней линии головы, слева или справа. Каждая экспериментальная серия состояла из 64 эпох: 16 без маскера (4 траектории по 4 предъявления каждая) и 48 с маскером (4 траектории по 12 предъявлений каждая). В пределах одной серии движущиеся сигналы предъявлялись на фоне стационарного маскера и без него в случайном порядке. Чередувание серий с разным положением маскера производилось так же в случайном порядке.

Регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ) проводилась с помощью хлорсеребряных электродов, расположенных в 32 точках на поверхности головы по международной системе 10-20, с заменой точек отведения РО3\РО4 на С5\С6. В качестве референтного принимали усредненный потенциал электродов на мочках ушей. Для записи горизонтальной и вертикальной электроокулограмм ещё два электрода располагались над правой бровью и под левым глазом. По окончании эксперимента из ЭЭГ выделяли эпохи анализа длиной 10000 мс, включая предстимульный интервал 930 мс, принимаемый за базовую линию. Вызванные потенциалы в каждом канале ЭЭГ получали для каждого вида стимулов отдельно. Затем ответы усредняли по кластеру из 24 фронтальных, центральных и латеральных электродов, в которых наблюдалась активность, связанная с предъявлявшимися стимулами.

Согласно полученным данным, в присутствии маскера происходило увеличение латентности и уменьшение амплитуды как для EOR, так и для MOR (Рис.1).

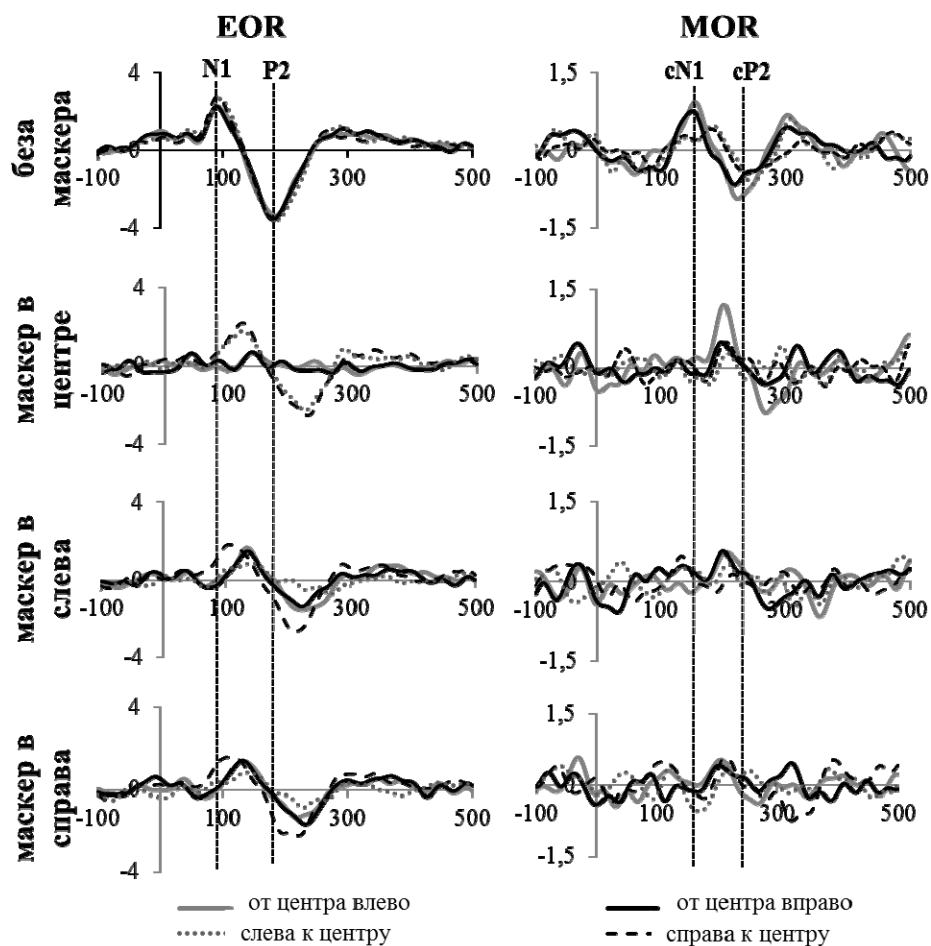


Рис.1 Вызванные потенциалы, усредненные по 10 испытуемым в кластере из 24 электродов. Слева - ответ на включение звука, справа – ответ на начало движения. По вертикальной оси – амплитуда, мкВ; по горизонтальной – время, мс. Положение маскера указано слева от графиков. Ответы на стимулы с разными траекториями показаны разными типами линий.

Амплитуда и латентность EOR при предъявлении тестовых стимулов на фоне маскера зависела от расположения маскера относительно тестового стимула. При совпадении начального положения стимула с положением маскера, амплитуда компонентов N1 и P2 ответа на включение уменьшалась с 3 до 1 мкВ, а их латентность увеличивалась на 40-50 мс. Если сигнал и маскер были разнесены в пространстве на  $90^{\circ}$  или  $180^{\circ}$ , амплитуда падала приблизительно на 1 мкВ, а латентность увеличивалась на 30-40 или 20-30 мс, соответственно.

Иная зависимость была получена для MOR. В тишине амплитуда ответов на стимулы, двигавшиеся от центра, была в среднем на 0,3 мкВ больше, а латентность на 30 мс меньше, чем на стимулы, двигавшиеся от левого и правого ушей к центру. В присутствии маскеров амплитуда ответов уменьшалась, латентность увеличивалась, а различия между ответами на центростремительные и центробежные стимулы исчезали.

На фоне маскеров также было отмечено изменение паттерна межполушарных различий EOR и MOR по сравнению с ответами, зарегистрированными при предъявлении тестовых стимулов в тишине. Полученные данные свидетельствуют о различии механизмов выделения неподвижных и движущихся сигналов из шума.



# ИЗУЧЕНИЕ ТЕРМИНАЛЬНОГО СПРУТИНГА У БОЛЬНЫХ НАСЛЕДСТВЕННОЙ МОТОРНОЙ И СЕНСОРНОЙ НЕВРОПАТИЕЙ I ТИПА В КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Соколова М.Г.<sup>1</sup>, Александров Н.Ю.<sup>1</sup>, Лопатина Е.В.<sup>2,3</sup>, Гавриченко А.В.<sup>3</sup>

Северо-Западный Государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,  
г. Санкт-Петербург<sup>1</sup>

Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова<sup>2</sup>

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН г. Санкт-Петербург<sup>3</sup>  
[sokolova.m08@mail.ru](mailto:sokolova.m08@mail.ru)

**Введение.** Терминальный спрутинг относится к числу физиологических, универсальных механизмов, который активизируется как на фоне возросшей функциональной активности морфо-функциональной системы мотонейрон-аксон-мышца, так и запускается на фоне процесса денервации мышечных волокон на фоне патологического процесса. Это позволяет рассматривать спрутинг в качестве одного из механизмов реализации программы пластичности периферической нервной системы. Изучение механизмов спрутинга и факторов, которые оказывают влияние на течение этого процесса при наследственной моторной и сенсорной невропатии I типа, возможно, откроют перед клиницистами новые перспективные направления лечения этого заболевания. Наследственные моторные и сенсорные невропатии (НМСН) – группа наследственных полиневропатий, связанных с дегенеративными изменениями периферических двигательных и чувствительных волокон, с формированием миопатического синдрома вследствие денервационного процесса.

**Материалы и методы:** Проведено клинико-неврологическое, нейрофизиологическое, лабораторное и экспериментальное исследование. Обследовано 12 больных НМСН I-го типа в возрасте 4-15 лет. Проводили стимуляционную электронейромиографию и метод оценки состояния двигательных единиц (ДЕ) с помощью игольчатых записывающих электродов – игольчатую электромиографию. В сыворотке крови определяли концентрацию нейротрофина ФРН иммуноферментным методом с использованием наборов фирмы RayBiotech, Inc и в соответствии с инструкциями производителя.

Экспериментальное исследование включало изучение влияния сыворотки крови больных НМСН I-го типа на рост нейритов спинальных ганглиев с помощью метода органотипической культуры нервной ткани. В качестве экспериментальной модели использовались 10–12-дневные куриные эмбрионы, из которых выделяли спинномозговые ганглии на уровне пояснично-крестцового отдела позвоночника (L5-S1). Спинальные ганглии (эксплантаты) помещали на дно чашки Петри, покрытой коллагеновой пленкой. Каждая чашка Петри содержала по 20-25 эксплантатов. Для прикрепления эксплантатов к коллагеновой подложке закрытые чашки Петри помещали в термостат при температуре 36,8°C на 10 минут, затем добавляли питательную среду. При культивировании использовали среды с pH 7,4 следующего состава: 40% – раствора Хенкса; 40% – среды Игла; 15% – сыворотки эмбриональной телячьей, для культур клеток, NuClone; 5% – куриного эмбрионального экстракта; с добавлением глюкозы (0,6%), инсулина (0,5 ед/мл), гентамицина (100 ед/мл), глутамина (0,35%) [Лопатина Е.В. и др., 2015]. Куриный эмбриональный экстракт готовили из 10–12-дневных куриных эмбрионов. Исследовано 900 эксплантатов сенсорных ганглиев 10-12-дневных куриных эмбрионов, культивируемых в CO<sup>2</sup>-инкубаторе (Sanyo) в течение 3-х суток на подложках из коллагена в чашках Петри при 36,5°C и 5% CO<sup>2</sup>. Контрольные эксплантаты культивировали в условиях питательной среды стандартного содержания. В экспериментальных чашках в культуральную среду добавляли сыворотку крови больных НМСН I-го типа. Для получения прижизненной информации о состоянии клеток,

формирующих зону роста эксплантатов спинальных ганглиев использовали аппаратно-программный комплекс для визуализации, обработки и анализа изображений ZEN\_2009 и ZEN\_2014 лазерного сканирующего микроскопа LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Микроскопические исследования выполнялись на оборудовании Центра коллективного пользования «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Для визуализации объектов использовали микроскоп «Axiostar Plus» («Carl Zeiss», Германия) согласно методике ультрамикроскопии живых объектов [Свищев Г.М., 2011]. Полученные изображения анализировали с помощью программы ImageJ. Для количественной оценки роста эксплантатов применяли морфометрический метод. Индекс площади (ИП) рассчитывали как отношение площади эксплантата к площади центральной зоны. Контрольное значение ИП принимали за 100%. Контрольную группу составили 30 здоровых человек и 300 эксплантатов сенсорных ганглиев 10-12-дневных куриных эмбрионов. Статистический анализ проводили с помощью программы STATISTICA 6.0 с вычислением t-критерия Стьюдента и t-критерия Манна-Уитни.

**Результаты и обсуждения:** Клинико-неврологическое обследование выявило характерные симптомы для НМСН 1 типа: дебют заболевания в детском возрасте, прогрессирующая слабость и атрофии в дистальных отделах рук и ног, снижение вибрационной и мышечно-суставной чувствительности, утолщение и уплотнение периферических нервных стволов, аксональная атрофия с сегментарной демиелинизацией. По шкале EDSS 31% больных имел высокую степень инвалидизации (9,5 баллов). По данным ЭНМГ- исследования у всех пациентов с НМСН I типа определялось: снижение амплитуд М-ответов и потенциалов действия нервов, грубое снижение скоростей проведения по моторным волокнам нервов (по срединным нервам значения скоростей проведения определялись в диапазоне 16-22 м/с (норма > 50 м/с), по большеберцовым нервам в диапазоне 7-14 м/с (норма > 40 м/с), наблюдались признаки утраты аксонов различной степени выраженности. При игольчатой электромиографии было выявлено наличие спонтанной активности, потенциалов фибрилляций, позитивных острых волн, что указывало на выраженный денервационный процесс по нейрогенному типу. По данным ЭНМГ- исследования у больных НМСН 1-го типа выявлено, что процесс терминального спрутинга выражен слабо. Концентрация ФРН в сыворотке больных НМСН 1-го типа значительно выше, чем в контрольной группе. Сыворотка крови больных НМСН 1-го типа была исследована в широком диапазоне разведений (1:100–1:2). В разведениях 1:2, 1:10, 1:50 сыворотка больных полностью блокировала рост нейритов сенсорных ганглиев. При добавлении в культуральную среду сыворотки крови в разведении 1:70 наблюдали достоверное нейрит-ингибирующее действие. ИП исследуемых эксплантатов был ниже контрольных значений в среднем на 25%. Статистический анализ выявил сильную корреляционную связь ( $p < 0,001$ ), (Spearman  $R = -0,90$ ) между фактом ингибирования роста нейритов сенсорных ганглиев куриных эмбрионов и концентрацией ФРН в сыворотке больных НМСН 1-го типа.

**Заключение.** Клинико-экспериментальное исследование выявило, что компенсаторные механизмы у больных НМСН 1-го типа, направленные на активацию терминального спрутинга, работают недостаточно эффективно. По-нашему мнению одним из механизмов тормозящий терминальный спрутинг является нейрит-ингибирующее действие сыворотки крови больных НМСН 1-го типа вследствие повышенного содержания нейротрофина ФРН в плазме крови больных.

## ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ МЕДИАЛЬНОГО СЕПТАЛЬНОГО ЯДРА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ГИППОКАМПЕ КРЫСЫ

Спивак Ю.С., Раводина А.М., Добрякова Ю.В., Маркевич В.А., Большаков А.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН  
[lampo\\_love@mail.ru](mailto:lampo_love@mail.ru)

В головном мозге крысы медиальный септум является основным источником холинергических входов в гиппокамп, который в свою очередь, вовлечен в широкий круг процессов, опосредующих механизмы обучения и памяти. Предшествующие исследования показали, что холинергические входы регулируют пластичность глутаматергических синапсов в гиппокампе, а также, что модуляция этих входов может влиять на процессы обучения и формирования памяти. Однако до сих пор нет четкого понимания молекулярных механизмов регуляции синаптической пластичности в гиппокампе септальными входами, а также того, может ли активность нейронов медиального септума регулировать экспрессию ранних генов, которые часто рассматриваются в качестве маркеров вовлеченности нейронов в процессы формирования памяти.

В нашем исследовании изучалось влияние стимуляции медиального септума на экспрессию генов в вентральном и дорсальном гиппокампах обоих полушарий.

Работа проводилась на половозрелых самцах линии Wistar весом 250-300 г. Общее число использованных животных - 21 особь. Животное наркотизировали уретаном и стереотаксически унилатерально вживляли биполярные электроды для электрической стимуляции и регистрации ответов. Вживление электродов производилось по следующим координатам: медиальный септум AP 0.5, L 0.0; поле CA1 AP 2.7, L -1.5. Глубину погружения электродов оценивали, исходя из показателей регистрируемого ответа (оптимальное соотношение амплитуды и стимулирующего тока).

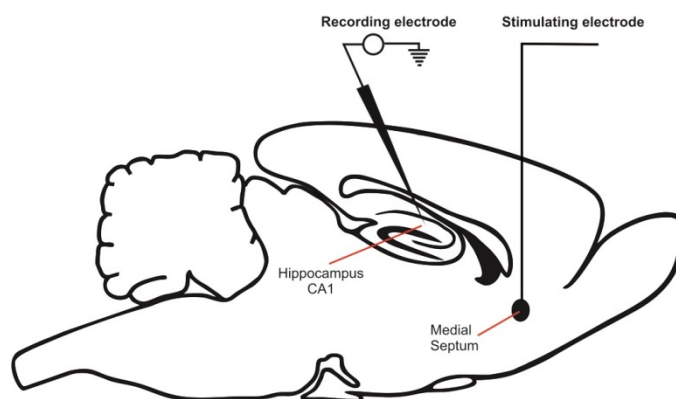


Рис.1 Схема расположения стимулирующего и регистрирующего электродов в головном мозге крысы.

Было протестировано три группы животных. В двух из них для регистрации фокальных потенциалов поля CA1 проводили стимуляцию медиального септума прямоугольными импульсами 50-100 мкс. После записи базовой линии у части животных вызвали потенциацию входов из медиального септума. Применяли серию из 5 предъявлений по 5 стимулов частотой 100Гц, между предъявлениями 30с. Третья группа животных была контрольной без предъявления электрической стимуляции.

После электрофизиологической регистрации животных умерщвляли декапитацией через 1,5 часа после начала электрофизиологической регистрации, извлекали головной мозг и выделяли контр- и ипсилатеральный гиппокамп. Затем каждый гиппокамп разделялся на вентральную и дорсальную части. Полученные ткани замораживались в жидком азоте для предотвращения разрушения РНК. Из экспериментальных образцов выделялась РНК с последующей ДНКазной обработкой и обратной транскрипцией. После получения кДНК была проведена серия ПЦР с интересующими нас таргетными генами, в состав которых вошли ранние гены (Arc, C-fos, Cyr61, Egr1, Egr2, Egr3, Egr4) и нейротрофические факторы (Ngf, Bdnf). Нормировка полученных результатов Real-time PCR производилась на 2 гена домашнего хозяйства (YWHAZ и OSBP).

Полученные данные свидетельствуют о незначительных изменениях уровня экспрессии ранних генов (Arc, C-fos, Egr1, Egr2, Egr3, Egr4) в дорсальной и вентральной частях контралатерального гиппокампа после стимуляции, либо потенциации медиального септума. Уровень экспрессии нейротрофических факторов (Ngf, Bdnf) был незначительно повышен только в дорсальной части контралатерального гиппокампа. Значимые увеличения в экспрессии всех перечисленных генов наблюдались как в дорсальном, так и в вентральном ипсилатеральном гиппокампе. Возможно, что волна распространяющейся депрессии, возникающая при повреждении гиппокампапищущим электродом, является фактором, облегчающим запуск в клетках ипсилатерального гиппокампа транскрипции генов после стимуляции/потенциации медиального септума.

*Работа была поддержана грантом № 16-15-10403*

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ЗУБЧАТОЙ ФАСЦИИ ГИППОКАМПА КРЫС ПОСЛЕ ОБУЧЕНИЯ

***Швадченко А.М.<sup>1,2</sup>, Волобуева М.Н.<sup>1</sup>, Винарская А.Х.<sup>1</sup>, Баль Н.В.<sup>1</sup>***

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН<sup>1</sup>  
ФГАОУ ВО Первый Московский Государственный медицинский университет  
им. И.М. Сеченова Минздрава России<sup>2</sup>  
e-mail: [bal\\_nv@mail.ru](mailto:bal_nv@mail.ru)*

Оксид азота (N) является распространенной сигнальной молекулой в организме, регулирующей различные процессы на внутри- и межклеточном уровне, в том числе в нервной системе. В настоящее время накапливаются данные о том, что оксид азота может участвовать в эпигенетической регуляции экспрессии генов, что представляет особый интерес, так как предполагается, что изменение экспрессии генов наряду с синаптической пластичностью является одним из механизмов формирования памяти. В настоящей работе проведено исследование экспрессии генов после обучения в модели контекстного обучения в зубчатой фации гиппокампа.

Перед экспериментом самцов крыс линии Вистар приручали к рукам и к процедуре переноса в течение нескольких дней. В день эксперимента подопытных животных помещали в камеру с металлической решеткой, через которую проводили двукратную электрокожную стимуляцию. За полчаса до посадки в камеру животным вводили физиологический раствор или блокатор синтеза оксида азота L-NAME в концентрации 30 мг/кг. Через час после сочетания контекста и электрокожной стимуляции животным проводили анестезию с помощью изофлурана и извлекали зубчатую фацию гиппокампа, которую немедленно замораживали в жидком азоте. В качестве контроля использовали крыс из домашних клеток, с которыми не проводили дополнительных манипуляций, кроме приручения перед экспериментом.

Далее полученные образцы гомогенизировали в Qiazol и выделяли РНК. С полученной РНК проводилась обработка с помощью DNaseI и обратная транскрипция, после чего экспрессию генов анализировали с помощью количественной ПЦР в реальном времени.

В изолированной зубчатой фации мы обнаружили достоверное повышение экспрессии гена *fos* и *igf2* через 1 час после обучения по сравнению с пассивным контролем, при этом блокада синтеза оксида азота с помощью L-NAME предотвращала это повышение. Интересно, что наблюдалась недостоверное повышение раннего гена *arc* как в обученной группе, так и в группе с введением L-NAME. Полученные данные свидетельствуют о том, что синтез оксида азота может регулировать экспрессию гена во время обучения в зубчатой фации гиппокампа. Отдельно стоит отметить изменение экспрессии *igf2* – ростового фактора, который, по некоторым данным, может регулировать нейрогенез в гиппокампе.

Ранее во множестве работ было показано, что оксид азота является важным регулятором синаптической пластичности. Данные, полученные в настоящей работе и в экспериментах других авторов, свидетельствуют о том, что оксид азота может быть также важным эпигенетическим фактором во время обучения.

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда 18-75-10112*