XXIX НАУЧНАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО ФИЗИОЛОГИИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ,

посвященная 300-летию РАН

30 – 31 октября 2025 года

ТЕЗИСЫ УЧАСТНИКОВ КОНФЕРЕНЦИИ

Г. МОСКВА

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ АДЕНОАССОЦИИРОВАННЫХ ВИРУСОВ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОЙ АБЛЯЦИИ НЕЙРОНОВ НА ОСНОВЕ ПРОАПОПТОТИЧЕСКОГО БЕЛКА BAX

Алхалаби Г., Корягина А.А., Большаков А.П.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

e-mail: ghofranalhalabi123@gmail.com

Ключевые слова: Селективная абляция, белок Bax, аденоассоциированный вирус.

Введение. Селективная абляция специфических субпопуляций нейронов является ключевым методом в нейробиологии для изучения функций нейронных цепей. Существующие подходы, такие как применение эксайтотоксинов (иботеновая или каиновая кислоты) или селективных токсинов (например, MPP+), часто страдают от недостаточной специфичности или вариабельной эффективности, что ограничивает их применение. Таким образом, существует потребность в разработке новых, высокоспецифичных методов таргетной абляции. Нами предложен и протестирован новый генетический подход для индукции селективной гибели нейронов. Подход основан на доставке гена проапоптотического белка Bax под контролем клеточно-специфичного промотора с помощью аденоассоциированных вирусов.

Методы и Результаты. Были созданы рекомбинантные AAV2/9 векторы, несущие кассету экспрессии Bax под контролем нейроспецифичного промотора синапсина (hSyn-BAX-IRES-EGFP). Установлено, что экспрессия Bax в клетках-продуцентах HEK293T приводит к их гибели и снижению титра вируса. Попытка ко-трансфекции с плазмидой, экспрессирующей антиапоптотический белок Bcl2 (pCMV-BCL2), не позволила решить эту проблему. Взрослым мышам C57BL/6 инъецировали AAV2/9-hSyn-BAX-IRES-EGFP или контрольный AAV2/9-hSyn-IRES-EGFP в область гиппокампа. Через 2 и 6 недель проводили гистологический анализ мозга для выявления дегенеративных изменений. Через 6 недель поведение животных тестировали в лабиринте Барнса, открытом поле и Y-лабиринте. В группе, получившей AAV-BAX, выявлены значительные дегенеративные изменения в зубчатой извилине и области CA3 гиппокампа по сравнению с контрольной группой. Несмотря на структурные повреждения гиппокампа, не обнаружено статистически значимых различий в когнитивных функциях (лабиринт Барнса, Y-лабиринт) и уровне тревожности (открытое поле) между экспериментальной и контрольной группами.

Предложенный подход представляет собой перспективную платформу для селективной абляции нейронов, однако необходимы его дальнейшая оптимизация и валидация на других моделях и нейронных популяциях.

ИНТЕГРАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГРАФОВОГО АНАЛИЗА ЭЭГ ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ УГНЕТЕНИИ СОЗНАНИЯ

Вигасина К.Д.[1], Шарова Е.В.[1], Машеров Е.Л.[2], Зайцев О.С.[2], Готовцев П.М.[3]

[1] Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
[2] НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко МЗ РФ, Москва, Россия
[3] Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

e-mail: kristina.vigasina@yandex.ru

Ключевые слова: графовый анализ, ЭЭГ, состояние минимального сознания, ТЧМТ.

Восстановление психической деятельности пациентов с длительным угнетением сознания после тяжелой черепно-мозговой травмы (ТЧМТ) - актуальная медико-социальная проблема. В этой связи научно-практический интерес представляет анализ особенностей нейросетевой активности мозга при нарушениях сознания в сопоставлении с нормой. Значительным потенциалом в оценке нейросетевой организации мозга обладает графовый анализ (ГА) ЭЭГ, позволяющий количественно охарактеризовать процессы сегрегации, обеспечивающие функциональную специализацию, а также интеграции т.е. глобальной коммуникацию информации от разных регионов мозга.

Цель работы: определить особенности глобальных метрик графового анализа ЭЭГ, характеризующих процессы функциональной интеграции, у пациентов с хроническим угнетением сознания после ТЧМТ в сопоставлении со здоровыми людьми.
Основная группа наблюдений - 16 пациентов (13 мужчин, 3 женщины, возраст от 17 до 60 лет) с длительным угнетением сознания после ТЧМТ, обследованные в сроки от 2.5 мес. до 5 лет после травмы. Уровень сознания пациентов оценивали по клинической шкале CRS-R. Согласно ей, во время исследования все пациенты пребывали в состоянии минимального сознания MCS- (наличие произвольной фиксации взора без выполнения инструкций и речевой продукции), ставшем впоследствии хроническим. Группа контроля - 20 здоровых добровольцев (16 мужчин, 4 женщины) в возрасте от 21 до 29 лет. Анализировали монополярные безартефактные записи ЭЭГ длительностью не менее 1.5 мин, полученные от 18 электродов по системе 10-20% в состоянии спокойного бодрствования с закрытыми глазами. Графовый анализ проводился в среде Matlab (Matlab R2023b) – при этом вершинами графа являлись позиции электродов, а рёбрами – когерентность. Для расчёта основных метрик использовали Brain Connectivity Toolbox, для визуализации результатов – BrainNetViewer. Статистический анализ проводился в программе Statistica 10. Ряд базовых глобальных метрик ГА (глобальная эффективность, глобальный коэффициент кластеризации, характеристическая длина пути, энтропия) сопоставляли между группами наблюдений для мозга в целом по частотным поддиапазонам основных физиологических ритмов: дельта, тета1, тета2, альфа1, альфа2, альфа3, бета1, а также в широкой частотной полосе 0.5-20 Гц.
У пациентов с угнетенным сознанием по сравнению с контролем выявлено достоверное снижение глобальной эффективности, глобального коэффициента кластеризации, а также энтропии целостного графа наряду с увеличением характеристической длины пути для мозга в целом ($p \leq 0.01$, тест Манна-Уитни для независимых выборок) в широкой частотной полосе. Максимальные различия медиан показателей достигали 69-91%. Указанные изменения выражены также во всех анализируемых частотных диапазонах - с максимальным снижением метрик в полосах тета2, альфа1 и, особенно, альфа2 ($p \leq 0.001$), доминирующим по основным глобальным метрикам ГА в норме. Минимальными эти отклонения были для частоты бета1 ($p \leq 0.05$). Дополняя имеющиеся в литературе данные о выраженных нарушениях (преимущественном ослаблении) церебральных функциональных связей при посттравматическом угнетении сознания, выявленные изменения свидетельствуют о снижении эффективности и удлинении пути передачи информации, а также о сверхстабильности активности мозга как целостного графа у этой категории пациентов.

РОЛЬ ПОДАВЛЕНИЯ WNT-ОПОСРЕДОВАННОЙ ПЕРЕДАЧИ В СПРАУТИНГЕ МШИСТЫХ ВОЛОКОН В МОДЕЛИ PTZ-КИНДЛИНГА У МЫШЕЙ

Герасимов К.А., Дубанаева Н., Большаков А.П.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

e-mail: gerasimov.konstant@gmail.com

Ключевые слова: спраутинг мшистых волокон, PTZ-киндлинг, wnt-каскад.

Введение. Эпилепсия характеризуется рядом изменений в физиологии и морфологии головного мозга, в частности, спраутингом мшистых волокон (СМВ), проявляющимся в виде их аберрантного разрастания. Это считается важным компонентом эпилептогенеза, несмотря на то, что на сегодняшний ведутся дискуссии и вовлеченности СМВ в патогенез эпилепсии и возникающие при ней компенсаторно-приспособительные механизмы. Ряд исследователей полагает, что СМВ, отростки которых частично замыкаются сами на себя, лежит в основе реверберации возбуждения при эпилепсии. Другие исследователи полагают, что спраутинг является компенсаторной реакцией на глиоз гиппокампа и гибель мшистых клеток, и не признают его патофизиологической роли. Тем не менее, существует ряд работ, показывающих принципиальную возможность внутриклеточного wnt-сигналинга регулировать прорастания мшистых волокон в норме, однако исследований на фоне патологии не проводились. Цель данной работы заключается в изучении влияния, которое оказывает ингибирование сигнального пути Wnt на спраутинг мшистых волокон в гиппокампе мышей в норме и в модели PTZ-киндлинга.

Методы. Эксперимент провели на самцах мыши линии C57BL/6J. В качестве модели эпилепсии использовали модель PTZ-киндлинга: животным через день проводили внутрибрюшинные инъекции PTZ, разведенного в физрастворе, в подпороговой дозе (от 20 до 40 мг/кг). После достижения стабильного уровня судорожной активности мышам в течение двух недель ежедневно вводили *per os* ингибитор wnt-каскада LGK974. Затем у животных оценивали сохранность судорог путем однократного введения подпороговой дозы PTZ, а также двигательную активность и кратковременную память в тестах “Открытое поле” и “Y-образный лабиринт”. Оценку СМВ и гранулярного слоя проводили гистологически методом окрашивания срезов мозга по Тимму и Нисслю. Для оценки нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа применяли иммуногистохимическую окраску на даблкортин.

Результаты. Наибольшая длина мшистых волокон наблюдалась в группе подвергнутых киндлингу мышей, не получавших ингибитор (0,49 ± 0,03), и она значимо превышала длину волокнов контрольной группы (0,28±0,04), в то время как введение LGK974 частично, но не полностью, подавляло СМВ - показатель длины в этой группе значимо не отличался от других групп (0,37±0,02). При оценке толщины гранулярного слоя установили, что киндлинг приводит к значительному уменьшению толщины гранулярного слоя (39,5±2,4) по сравнению с контрольной группой (54,2±2,5), а LGK974 предотвращал эти изменения (53,5±2,2). Толщина слоя в группе LGK974 не только статистически значимо превышала показатели группы с киндлингом, но и не отличалась от значений в контрольной группе, что указывает на практически полное сохранение структуры ткани. Также мы установили, что киндлинг приводит к появлению характерных признаков аберрантного нейрогенеза, но LGK974 не оказал на эти параметры значимого влияния, как и на сохранность судорожной активности, и на поведение животных в тестах “Открытое поле” и “Y-образный лабиринт”.

ОСОБЕННОСТИ ВОСПРИЯТИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ИСТОЧНИКА СЛУХОВОГО СИГНАЛА У ДЕТЕЙ С РАСТРОЙСТВОМ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Глазкова А.И.[1], Неклюдова А.К.[1], Сысоева О.В.[1]

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: glazkova.ai2002@gmail.com

Способность распознавать изменения в пространственных характеристиках звуковых сигналов является одной из основных функций слухового восприятия, непосредственно связанной с ориентировкой в комплексной аудиальной сцене, изменением направления внимания, выделением речи из шума и т.д. Целью данного исследования было изучение особенностей нейрофизиологических компонентов слухового восприятия у детей с расстройством аутистического спектра (РАС) в ответ на внезапное изменение источника звукового сигнала. Предполагается, что низкоуровневое нарушение обработки подобных характеристик звуковых сигналов может быть одной из причин наблюдаемых особенностей в развитии коммуникативных функций и формировании социального поведения.

Выборка исследования составила 64 участника мужского пола: 32 участника с диагностированным РАС и 32 участника из контрольной группы. Все они были распределены на 2 возрастные группы (с 3 до 8 лет и с 9 до 17 лет) для учета особенностей формирования компонентов вызванных потенциалов (ВП), связанных с возрастом. Для изучения реакции на изменения источника звукового сигнала в исследовании была использована oddball-парадигма. Все стимулы представляли из себя тоны частотой 1000 Гц, интенсивностью 80 дБ SPL и длительностью 100 мс. В первой серии стандартный стимул (80% вероятность) предъявлялся в левое ухо, а девиантный (20% вероятность) — в правое, во второй серии стандартный предъявлялся в правое ухо, а девиантный в левое. Для оценки нейрофизиологических процессов восприятия слухового сигнала были выбраны ранние и поздние компоненты MMR (mismatch response)). Для статистического анализа был использован дисперсионный анализ (repeated measures ANOVA). В качестве факторов рассматривались как межгрупповые (возрастная группа, принадлежность к клинической и контрольной группе), так и внутригрупповые (расположение девиантного стимула относительно участника и локализация нейрофизиологической активности (сигнал с отведения FC3 или FC4)).

В ходе статистического анализа, для раннего компонента MMR (50-200 мс) как значимый был выделен фактор возрастной группы ($F=6.57$, $p=0.013$): для младшей группы (от 3 до 8 лет) компонент был позитивным, а для старшей (от 9 до 17 лет) — негативным. С точки зрения различий между контрольной и клинической группами, поздний негативный MMR компонент (200-400 мс) оказался более выражен в контрольной группе по сравнению с клинической ($F=7.395$, $p=0.009$). Помимо этого, другая особенность ВП для участников из группы с РАС отражена в раннем компоненте MMR и выражается во взаимодействии факторов источника девиантного стимула, локализации активности и клинической или контрольной группы ($F=8.386$, $p=0.005$): в то время как для контрольной группы локализация компонента MMR центральная, и значимой разницы между лево- и правополушарной активностью нет, для клинической характерна межполушарная асимметрия.

Таким образом, характеристики слуховых компонентов, наблюдаемые у участников исследования из группы с РАС группе и контрольной группы имеют ряд значимых различий: поздний компонент MMR выражен значимо слабее, а активность, соответствующая раннему компоненту MMR, имеет атипичную межполушарную асимметрию. Эти особенности вызванных потенциалов отражают сниженную способность детей с расстройством аутического спектра детектировать изменения в источнике звукового сигнала.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ЭЛЕКТРОЭНЦЕФАЛОГРАФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ВОСПРИЯТИИ И КОГНИТИВНОЙ ОЦЕНКИ СЛОЖНЫХ ЭМОЦИОНАЛЬНЫХ СТИМУЛОВ В СОЦИАЛЬНОМ КОНТЕКСТЕ

Гусев И.В.[1], Моренков М.Д. [1], Смольская Д.В. [1], Каримова Е.Д.[1]

[1] *Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН*

Ключевые слова ЭЭГ, Моральные основания, Микросостояния.

Современные литературные данные указывают на то, что система, обеспечивающая появление моральных представлений, имеет крупный связующий узел в вентромедиальной префронтальной коре и включает в себя другие лобные области, передние островковые доли, передние структуры височных долей и правое височно-теменное сочленение вместе с прилегающей задней верхней височной бороздой. Тем не менее, до сих пор нет явного понимания функциональной структуры сетей, отвечающих за принятие решения в условиях неоднозначных социальных ситуаций. Кроме того, отсутствуют нейрофизиологические исследования когнитивной оценки социальных ситуаций с использованием сложных продолжительных экологически-валидных стимулов, которые приближают экспериментальную ситуацию к естественной.

Текущее исследование проводилось с целью получить целостную нейрофизиологическую картину паттернов ЭЭГ, происходящих при когнитивном оценивании сложных эмоциональных стимулов в социальном контексте. С этой целью были созданы пул видеороликов, отражающих эмоционально нагруженные сценарии социального характера, и пул контрольных видеороликов, не несущих социальной нагрузки. Участникам исследования требовалось выносить общую моральную оценку (положительную или отрицательную) наблюдаемым в видеороликах ситуациям в процессе их просмотра и позднее конкретизировать свой ответ по категориям, построенным на основании теории моральных оснований. Всего в исследовании было использовано 60 социально значимых видеороликов и 20 контрольных. Общая продолжительность видеороликов варьировала от 17 секунд до 3 минут.

В ходе работы были получены ЭЭГ данные 101 здорового добровольца. Запись 64 каналов ЭЭГ (международная система 10-10, референс FCz), пульсокиметрии и лицевой миограммы (Brain Products GmbH, Германия) производилась во время просмотра и оценки эмоциональных социально-окрашенных видеороликов и контрольных стимулов. Полученные записи ЭЭГ были отфильтрованы (полоса пропускания 0,5 – 35 Гц), очищены от артефактов с помощью метода ICA, также дополнительно были исключены все зашумлённые эпохи.

При анализе очищенных данных предполагается использовать в первую очередь такие методы, как межсубъектная корреляция, анализ микросостояний ЭЭГ, и в последующем анализ синтаксиса микросостояний ЭЭГ.

Основным ожидаемым результатом исследования предполагается комплексная характеристика паттернов динамических изменений микросостояний ЭЭГ при восприятии социальных стимулов и принятии решения об их моральном содержании применительно к каждому из моральных оснований в отдельности.

ОБСЛЕДОВАНИЕ НОВОЙ СРЕДЫ ПРИВОДИТ К УСИЛЕНИЮ СЛАБОЙ АССОЦИАТИВНОЙ ПАМЯТИ В ЗАДАЧЕ УСЛОВНО-РЕФЛЕКТОРНОГО ЗАМИРАНИЯ У МЫШЕЙ

Евдокимов М. Д.[1], Ивашкина О. И.[2], Торопова К. А.[2], Анохин К. В.[2]

1 РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева,
2 Института перспективных исследований мозга МГУ

e-mail: evdokimov.vom@gmail.com

Влияние прошлого опыта на текущее поведение является одной из ключевых проблем в нейробиологии [3]. Традиционно считалось, что консолидация памяти зависит только от силы и значимости обучающего стимула. Однако экспериментальные данные Moncada и Viola показали, что даже слабые, однократные стимулы могут быть преобразованы в долговременную память при условии того, что им предшествует или сопутствует опыт новизны [2]. Moncada и Viola проверяли гипотезу поведенческого мечения, согласно которой слабое обучающее событие создает «поведенческую метку» в синапсах нейронов энграммы. Исследование новой среды запускает синтез белков, связанных с пластичностью, и эти белки затем захватываются «помеченными» синапсами, стабилизируя те синапсы, которые были вовлечены в слабое обучение, и превращая кратковременную память в долговременную.

Целью нашего исследования было изучение влияния обследования новой обстановки на консолидацию слабой ассоциативной памяти в задаче условно-рефлекторного замирания (УРЗ) с использованием эффекта дефицита немедленного шока (ДНШ) [1].

Использовали самцов мышей линии C57Bl/6 (8–10 недель). Обучение проводили в течение 180 секунд. Для создания эффекта ДНШ мышей подвергали электрокожному раздражению (ЭКР, 0.3 мА, 2 с) на 2й секунде от помещения в новую обстановку, а контрольной группе ЭКР подавали на 120й секунде. Ассоциативную память об обстановке тестировали через 24 часа без подачи ЭКР. Для обследования новой среды мышей помещали на 10 мин в открытое поле (ОП) 44x44x40 см с объектами и ориентирами на стенах.

Были получены данные, которые подтверждают гипотезу поведенческого мечения и позволяющие распространить ее на задачу УРЗ. Были выявлены критические временные окна, в которых обследование новой среды наиболее эффективно усиливает консолидацию слабой памяти при ДНШ: 30 минут до обучения, непосредственно после обучения и через 2 часа после обучения. Дополнительно было установлено, что не любое событие, предшествующее или следующее за обучением, вызывает усиление консолидации слабой памяти. В отличие от обследования ОП, помещение мышей в лабораторные клетки в промежутке от 2 часов до и 2 часов после обучения не приводило к схожему эффекту усиления слабой памяти. Длительность нахождения в клетке (от 30 секунд до 10 минут) также не влияла на результат. Полученные данные позволяют предположить, что критическим фактором для запуска механизмов поведенческого мечения является интенсивная исследовательская активность животного при помещении в новую среду (ОП), тогда как нейтральная среда (клетка) не обеспечивает достаточного уровня новизны и активации исследовательского поведения.
Далее мы планируем проверить, как исследование новой среды (ОП) до или после обучения влияет на консолидацию памяти у разных возрастных групп мышей. Также мы планируем изучить влияние обогащенной среды в домашней клетке на консолидацию памяти.

Литература:

1. Fanselow, M. S. Factors governing one-trial contextual conditioning / M. S. Fanselow // Animal Learning & Behavior. – 1990. – Vol. 18, № 3. – P. 264–270.
2. Moncada, D. Induction of long-term memory by exposure to novelty requires protein synthesis: evidence for a behavioral tagging / D. Moncada, H. Viola // J Neurosci. – 2007. – Vol. 27, № 28. – P. 7476-7481.

СОЧЕТАННАЯ ИНАКТИВАЦИЯ НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ И ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ НАРУШАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ IN VITRO

Игнашева Ю.Е.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия.

E-mail: Uliana1997-7050@yandex.ru

Аннотация: В работе исследовали влияние инактивации норадренергической системы с помощью селективного нейротоксина DSP-4 на мышиной модели болезни Альцгеймера (БА) - мышах линии 5xFAD в возрасте 6 мес. Снижение содержания норадреналина (NA) вызывало нарушение эффективности синаптической пластичности у мышей линии 5xFAD, но не у мышей дикого типа. В экспериментах на крысах мы моделировали холинергический дефицит в гиппокампе, возникающий после дегенерации нейронов медиальной септальной области (МСО), индуцируемой введением иммунотоксина 192IgG-сапорином. Инактивация норадренергической системы нейротоксином DSP-4 у крыс на фоне холинергической дегенерации нейронов МСО приводила к более выраженному нарушению эффективности синаптической пластичности по сравнению со значениями у животных только с холинергической дегенерацией.

Ключевые слова: гиппокамп; голубое пятно; DSP-4; долговременная потенциация; мыши линии 5Xfad, 192IgG-сапорин, медиальная септальная область.

Холинергическая и норадренергическая системы являются модуляторными в отношении синаптической пластичности. Ранее показано, что обе эти системы вовлечены в патогенез нейродегенертивных заболеваний и дисбаланс даже одной из них может являться как следствием, так и усугубляющей причиной нейродегенерации.

Голубое пятно (LC) является единственным источником NA в головном мозге. Норадреналин не только опосредует процессы внимания, обучения и памяти, но и обладает противовоспалительным и нейропротекторным свойствами. Дегенерация нейронов LC является одним из ранних признаков развития БА, который связан с отложением β-амилоидных (Aβ) и тау-нейрофибриллярных бляшек. На фоне повреждения LC обычно наблюдают прогрессирование тяжести заболевания. У пациентов с БА потеря нейронов в LC составляет от 40% до 80%.

Хорошо известно, что холинергическая дегенерация является одним из структурно-функциональных нарушений, возникающих при болезни Альцгеймера (БА), и может быть одной из основных причин нарушения обучения и памяти. Гибель холинергических нейронов в базальном переднем мозге при БА ведет к потере холинергической иннервации гиппокампа, миндалины и неокортекса, способствуя отложению β-амилоида и гиперфосфорилированного тау-белка, которые являются маркерами БА.

Целью настоящего исследования было сравнить влияние инактивации норадренергической системы с помощью селективного нейротоксина DSP-4 на двух моделях БА: 1) мышах линии 5xFAD 2) крысах с холинергическим дефицитом в гиппокампе, вызванным иммунотоксином 192IgG-сапорином.

Методика: Работу провели на самцах линии 5xFAD, которые экспрессируют человеческие APP и PSEN1 с пятью мутациями, связанными с БА и самцах крыс линии Вистар. Мышей разделили на 4 группы: WT (дикий тип C57BL/6) + ФЗ (физраствор 0,9% NaCl), WT + DSP-4, Trans (трасген 5xFAD) + ФЗ и Trans + DSP-4. Крысы были разделены на 3 группы: Ctrl, SAP (дегенерация холинергических нейронов в МСО), SAP + DSP-4 (дегенерация холинергических нейронов + истощение NA). Всем животным внутрибрюшинно дважды с интервалом в 7 дней вводили DSP-4 в дозе 50 мг/кг или физраствор. Для индукции холинергической дегенерации крысам интерсептально вводили 192IgG-сапорина в дозе 1,5 мкг/животное. Сначала оценивали поведение в тесте “Открытое поле”, “Сужающаяся дорожка” и “Y-образный лабиринт”. Затем проводили анализ электрофизиологических характеристик на переживающих срезах гиппокампа. Фокальные вызванные постсинаптические потенциалы (фВПСП) регистрировали в зоне CA1 в ответ на парные стимулы, подаваемые на

коллатерали Шаффера. Для анализа статистичсеких изменений использовали многофакторную ANOVA с двумя межгрупповыми (фактор генотипа и фактор инъекции) и одним внутригрупповым (повторные изменения) факторами для мышей и ANOVA для повторных измерений для крыс.

Результаты: При анализе влияния инактивации норадренергической системы на характеристики вызванных ответов поля CA1 гиппокампа выявили статистически значимые различия между мышами дикого типа и мышами линии 5xFAD. Амплитуда ответов фВПСП после подачи высокочастотной стимуляцией (HFS) у мышей дикого типа была статистически значимо выше, чем значения у мышей линии 5xFAD ($p < 0,001$). На основании данных последующего Post hoc анализа показали, что амплитуды фВПСП у мышей, которым вводили физраствор, и животных из группы WT + DSP-4 на протяжении 60 мин статистически значимо отличались от базовой линии, а у животных из группы Trans + DSP-4 прирост амплитуды после потенциации был не значим.
На фоне инактивации норадренергической системы в сочетании с дегенерацией холинергических нейронов выявили, что как после дегенерации холинергических нейронов, так и после сочетанной инактивации двух систем наблюдали статистически значимое снижение амплитуды ответов фВПСП после подачи высокочастотной стимуляции по сравнению со значениями у животных из контрольной группы ($p < 0,048$) . Однако в ходе последующего Post hoc анализа показали, что у крыс после дегенерации холинергических нейронов значения амплитуды были статистически значимо ниже значений у крыс из контрольной группы на протяжении последних 25 мин после индукции ДП. У крыс после двойной дисфункции (SAP + DSP-4) амплитуда была статистически значимо ниже, чем значения у животных из контрольной группы на протяжении 60 мин после индукции ДП. Инактивация норадренергической и холинергической систем существенно не влияла на поведение животных.

Заключение: Нарушение функциональной активности NA-системы приводило к снижение эффективности синаптической передачи в большей степени у мышей линии 5xFAD. Скорее всего, полученные изменения у мышей из группы 5xFAD могут быть связаны с истощением компенсаторных механизмов в отличии от животных дикого типа. После инактивации двух систем у крыс выявили, что хотя холинергический дефицит на фоне истощения NA и усугубляет снижение эффективности синаптической пластичности, но на достаточно небольшой процент. Данная тема нуждается в дальнейшем изучении.

БИЦИСТРОННАЯ КОНСТРУКЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ КАНАЛЬНЫЙ РОДОПСИН PSCHR2 И КАЛЬЦИЕВЫЙ ЗОНД RGECO1, ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛНОСТЬЮ ОПТИЧЕСКИХ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Иджилова О. С.[1], Смирнова Г. Р.[1], Абонакур А.[1, 2], Малышев А.Ю.[1]

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
2 Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Московская область, Россия

e-mail: malyshev@ihna.ru

Введение. Полностью оптический метод исследования позволяет регистрировать активность нейронов по сигналу флуоресцентных зондов, а также одновременно модулировать ее с помощью светочувствительных активаторов или ингибиторов. В рамках данной работы нами была создана и испытана бицистронная генетическая конструкция, несущая ген канального родопсина, недавно выделенного из водоросли P. subcordiformis, со спектром возбуждения, сдвинутым в коротковолновую область, а также ген красного кальциевого индикатора RGECO1, разделенные P2A-вставкой. Была продемонстрирована работоспособность конструкции — в эксперименте световая стимуляция опсина приводила к увеличению уровня флуоресцентного сигнала кальциевого зонда, детектируемого оптически.

Методы. Плазмида pAAV_CAG_PsChR2_P2A_jRGECOa была создана на основе плазмиды pAAV_CAG_PsChR2_Venus. Последовательность P2A_jRGECOa была амплифицирована с плазмиды pAAV-AscI-CAG-NES-jRGECO1a.

Механически измельченная ткань неокортекса мышей (0-1 постнатальный день) была инкубирована в 0,08% растворе трипсина в DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), затем ресуспендирована в нейробазальной среде. 1/3 часть суспензии, содержащей фракцию одиночных клеток, была подвергнута электропорации плазмидой pAAV_CAG_PsChR2_P2A_jRGECOa. Первичные культуры нейронов были высеяны на покровные стекла, покрытые полилизином, и содержались в инкубаторе (t=37°C, [CO2]=5%).

Электрофизиологические эксперименты проводили на 14-16 день инкубации in vitro. Ванночка с культурой, закрепленная на предметном столике эпифлуоресцентного микроскопа, была заполнена стандартным буферным раствором Хэнкса с глюкозой. Световая стимуляция опсина PsChR2 в нейронах осуществлялась с помощью оптопетчера — модифицированного держателя петч-пипетки с интегрированным каналом для подвода в пипетку оптоволокна, подключенного к светодиоду с максимумом излучения 470 нм. Для возбуждения RGECO1 через объектив микроскопа использовался светодиод с максимумом спектра излучения 530 нм. Сигнал флуоресценции RGECO1 регистрировала высокочувствительная камера NeuroCCD.

Результаты и их обсуждение. Сначала был зарегистрирован флуоресцентный сигнал RGECO1, возникающий во время высокочастотной стимуляции нейрона током через петч-пипетку (частота 50 Гц, 5 импульсов, амплитуда импульса 200 пА) в режиме фиксации тока. Таким образом была подтверждена функциональность RGECO1 в культивированных нейронах. После этого в полностью оптических экспериментах для возбуждения нейронов применялась световая стимуляция через оптоволокно оптопетчера, установленное непосредственно над сомой клетки, и одновременно регистрировался сигнал флуоресценции кальциевого сенсора, в отсутствие внутриклеточной регистрации и стимуляции. Световой стимул, поданный через оптоволокно, вызывал выраженный подъем уровня флуоресценции RGECO1, сопоставимый по амплитуде с ответом на 50-герцовый электрический стимул.

Заключение. В данном исследовании мы продемонстрировали принципиальную возможность реализации полностью оптической стимуляции и регистрации активности нейронов с помощью таких перспективных инструментов, как опсин PsChR2 и красный кальциевый сенсор RGECO1.

ВЛИЯНИЕ ДЕПРЕССИИ НА МЕЖСЕТЕВОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ: ДАННЫЕ фМРТ В ПОКОЕ

Иерусалимский Н.В.[1,2], Самотаева И.С.[1,2], Каримова Е.Д.[1,2], Ф. К. Ридер[2], Зинчук М.С[2]

[1]ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской академии наук, Москва, Россия.
[2]ГБУЗ «Научно-практический психоневрологический центр имени З.П. Соловьева» Департамента здравоохранения города Москвы, Россия.

E-mail: ierusalimskii.nv14@physics.msu.ru

Ключевые слова: магнитно-резонансная томография; эпилепсия; депрессия; функциональная коннективность.

Гипотеза: Развитие эпилепсии может влиять на паттерны функциональной коннективности (ФК) структур головного мозга (ГМ). Наличие при этом коморбидной депрессии модулирует изменения, характерные для основного заболевания.

Цель исследования: Изучение функциональной организации сетей покоя, в том числе сети пассивного режима работы (СПРР), у пациентов с височной эпилепсией с депрессивной симптоматикой в анамнезе и без неё, а также у здоровых испытуемых.

Методика: Группы испытуемых: 77 пациентов с височной эпилепсией (ВЭ) (36 с депрессией (средний возраст 35±11 лет), 41 без нее (средний возраст 35±11 лет)), 48 здоровых испытуемых (средний возраст 34±8 лет). МРТ ГМ проводили на сканере EXCEL ART VantageAtlas-X («Toshiba», Япония) с индукцией магнитного поля 1,5 Тл в стандартных режимах.

Для обработки T2*-взвешенных изображений, полученных во время спокойного бодрствования обследуемого (глаза открыты), использовали программы fMRIPrep 25.1.1 и eXtensible Connectivity Pipeline – DCAN (XCP-D). Для анализа функциональной коннективности был применён ковариационный анализ по факторам: группа (эпилепсия, депрессия и эпилепсия, контроль), коваринты: пол и возраст. Для попарных межгрупповых сравнений был применён тест Тьюки-Крамера. Для коррекции эффекта множественных сравнений была применена поправка Холма-Бонферрони.

Результаты: Было показано, что у пациентов с ВЭ и депрессией наблюдается преимущественно снижение функциональной коннективности между ключевыми узлами сети выделения значимости (СВЗ), дорсальной сетью внимания (ДСВ), а также межполушарных взаимодействий внутри СПРР. Напротив, при ВЭ без депрессии наблюдалось повышение функциональной коннективности между отдельными узлами разных сетей покоя — СПРР, сенсомоторной сетью (СМС) и лобно-теменной контрольной сетью (ЛТС).

Интегративный анализ выявил, что наиболее выраженные изменения коннективности при ВЭ с депрессией проявляются снижением связности между СВЗ и моторными и контрольными системами, а также нарушением межполушарной согласованности внутри СПРР. При неотягощённой эпилепсии, напротив, усиление связей между узлами СПРР и ЛТС может отражать компенсаторные механизмы, направленные на поддержание функциональной устойчивости. Общим для обеих групп эпилепсии является увеличение связности между префронтальными и теменными узлами СПРР и ЛТС, что отражает характерные перестройки функциональной архитектуры мозга пациентов с ВЭ.

Выводы: Выявленные закономерности расширяют представления о нейробиологических основах сочетания эпилепсии и депрессии, и свидетельствуют о наличии различных механизмов нейросетевой перестройки при ВЭ в зависимости от наличия коморбидной депрессии.

РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА КОМБИНИРОВАННОГО СТАБИЛОМЕТРИЧЕСКОГО И ЭЛЕКТРОНЕЙРОМИОГРАФИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИИ РАВНОВЕСИЯ У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ ПОСЛЕ ЛЕГКОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

Карчевский С.Ф.[1,2], Лин Л.Ф.[3]

1-МИРЭА - Российский технологический университет, Москва, Россия
2-ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
3-Тайбейский медицинский университет, Тайбей, Тайвань

Нарушение равновесия при неврологических заболеваниях и у пожилых людей является клинико-социальной проблемой, поскольку падения могут вести к дополнительным травмам, затягивать реабилитацию после инсульта или черепно-мозговой травмы и снижать качество жизни. Используемое в клинической практике стабилометрическое исследование не позволяет оценить степень активации отдельных мышц, в частности последовательность активации проксимальных и дистальных мышц при разных нагрузках, что необходимо для прогнозирования возможных падений. В этой связи одновременная регистрация стабилометрических и электромиографических (ЭМГ) параметров представляется перспективным. В этой связи нами была сформулирована гипотеза, согласно которой регистрация ЭМГ передних большеберцовых мышц совместно со стабилометрией повысят точность оценки постурального контроля в передне-заднем направлении. Мы полагаем, что степень активации мышц будет зависеть от сложности выполняемого задания и необходимости одновременного выполнения моторной и когнитивной задачи.

Целью исследования был подбор ЭМГ-параметров для последующего проведения комбинированного стабилометрического-ЭМГ-исследования у здоровых пожилых людей и пожилых пациентов с легкими черепно-мозговыми травмами.

Для отработки протокола были проведены тестовые исследования с участием одного добровольца с лёгкой черепно-мозговой травмой. Для регистрации ЭМГ на испытуемого крепилось два ЭМГ-датчика на передних большеберцовых мышцах. Для регистрации стабилометрических данных использовали два типа платформ: жесткая стабилометформа и стабилоплатформа с мягкой неустойчивой поверхностью. Исследование включало 12 проб, включающих поддержание позы с открытыми и закрытыми глазами при отсутствии и наличии дополнительной когнитивной задачи (речевая аудиометрия и тест Струпа.).

ЭМГ обрабатывали фильтром Баттерворта четвёртого порядка с полосой пропускания 20 – 400 Гц. Затем сигнал ЭМГ был нормализован с последующим вычислением среднеквадратичного значения для каждой ноги. После этого вычисляли коэффициент асимметрии работы мышц нижних конечностей. Стабилометрический сигнал был обработан согласно методике проведения теста Modified Clinical Test for Sensory Interaction and Balance и включал в себя три индекса раскачивания - общую устойчивость, передне-заднюю устойчивость и медиально-латеральную устойчивость.

Выявлена зависимость более высоких показателей амплитуды ЭМГ при поддержании равновесия при одновременном решении когнитивной задачи по сравнению с ситуациями без когнитивной нагрузки. Эти изменения составили 23%. Влияние типа платформы на показатели ЭМГ были в пределах 15%. Выявлено, что введение дополнительной когнитивной нагрузки привело к увеличению среднеквадратичноых значений амплитуд ЭМГ с более низких значений (0,01 до 0,04) до более высоких (0,05 до 0,08) в зависимости от типа задания.

Таким образом, в ходе предварительных исследований был разработан и опробирован протокол одновременной регистрации стабилометрических и электромиографических данных, который при увеличении объема выборки может стать основой для разработки персонифицированных методов профилактики падений.

УСТОЙЧИВОСТЬ КРЫС ЛИНИИ SHR К ПОСЛЕДСТВИЯМ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ

Кострюков П.А., Комольцев И.Г., Соловьева А.С., Костюнина О.В., Шальнева Д.В., Салып О.Ю., Башкатова Д.А., Новикова М.Р., Гуляева Н.В.

Лаборатория функциональной биохимии нервной системы, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Институт высшей нервной деятельности и Нейрофизиологии Российской Академии Наук"

e-mail: pavelkostrukov075@gmail.com

Ключевые слова: артериальное давление, гиппокамп, когнитивные нарушения, черепно-мозговая травма.

Введение. Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из основных причин смертности и инвалидизации во всём мире. Острый период ЧМТ характеризуется каскадом вторичных патологических процессов, включая нейровоспаление и когнитивные нарушения. ЧМТ на фоне артериальной гипертензии рассматривается как особый вид патологии, при которой гипертензия усугубляет последствия травмы. Риск смертности и развития когнитивных нарушений после ЧМТ повышен у пациентов с хронической артериальной гипертензией. Линия крыс SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) со спонтанной артериальной гипертензии характеризуется гиперактивностью, нарушением стресс-реактивности и развитием когнитивных нарушений. В данной работе исследовали влияние ЧМТ в остром периоде на уровень тревожности, рабочую и пространственную память, а также морфологические изменения в гиппокампе крыс линий Wistar и SHR. Рабочая гипотеза предполагала, что патологические последствия у крыс SHR после травмы в остром периоде будут более выражены по сравнению с нормотензивными животными.

Материалы и методы.
Были использованы самцы крыс линии Wistar (n=20) и SHR (n=17) массой 300-350 г. Животные каждой линии были разделены на ложнооперированную группу (ЛО; Wistar n=9, SHR n=7) и группу с черепномозговой травмой (ЧМТ; Wistar n=11, SHR n=10). Для ЧМТ использовали модель латерального гидродинамического удара. В течение 7 дней после ЧМТ у животных контролировали артериальное давление, были проведены поведенческие тесты (приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ), распознавание перемещённого и нового объектов), а также оценивали плотность нейронов в полях гиппокампа.

Результаты.
Сравнение поведенческих показателей у крыс линии Wistar и SHR до ЧМТ. В тесте ПКЛ крысы линии Wistar, в отличие от SHR, дольше находятся в тёмных рукавах ($p<0.001$) и характеризуются более высокой вертикальной активностью. В тесте распознавания нового объекта у животных линии SHR в сравнении с Wistar, ниже дискриминационный индекс ($p<0.05$), а время обнюхивания знакомого объекта продолжительнее ($p<0.05$). В целом, сравнение двух линий свидетельствует о худших когнитивных способностях крыс линии SHR.
Сравнение групп ЛО и ЧМТ у крыс линии Wistar. У крыс линии Wistar после ЧМТ в тесте ПКЛ уменьшается время, проведенное в тёмном рукаве по сравнению с группой ЛО ($p<0.05$), но не изменяется время пребывания в светлом рукаве. В тесте распознавания нового объекта в группе ЧМТ дискриминационный индекс достоверно ниже ($p<0.05$), а время обнюхивания знакомого объекта более продолжительно ($p<0.05$), чем в группе ЛО. В зубчатой извилине гиппокампа через 7 дней после ЧМТ плотность нейронов была снижена на 40% в группе ЧМТ по сравнению с ЛО ($p<0.01$). Таким образом, в остром периоде после ЧМТ крысы линии Wistar демонстрируют когнитивные нарушения, сопровождающиеся патологическими изменениями в гиппокампе.
Сравнение групп ЛО и ЧМТ у крыс линии SHR.

В тестах ПКЛ и распознавания нового объекта группы ЛО и ЧМТ линии SHR не различаются по поведению. В зубчатой извилине выявлено снижение плотности нейронов на 19% в группе ЧМТ по сравнению с ЛО ($p<0.05$).

Заключение.

На фоне исходно сниженных когнитивных способностей у гипертензвиных крыс линии SHR ЧМТ не вызывает дальнейшего изменения поведенческих показателей в остром периоде в отличие от нормотензивных крыс линии Wistar, у которых в результате ЧМТ наблюдаются существенные нарушения поведения. ЧМТ вызывает более выраженное снижение плотности нейронов в ипсилатеральной зубчатой извилине у крыс линии Wistar по сравнению с SHR. Полученные результаты позволяют предположить, что длительное существование в условиях хронической артериальной гипертензии запускает в организме крыс SHR комплекс компенсаторных и адаптивных механизмов. Эти механизмы, сформировавшиеся как ответ на постоянный стрессовый фактор - высокое давление, обеспечивают перекрёстную адаптацию и повышают устойчивость нервной системы к острому повреждающему воздействию – ЧМТ.

РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ РЕАКТИВНЫХ АСТРОЦИТОВ В НЕЙРОНЫ В ФОКУСЕ ЭПИЛЕПСИИ

Котова И.М.[1]
(Участники работы Сулейманова Е.М. [1], Баль Н.В. [1], Комарская С.Н. [2], Молодина В.В. [1], Белявский А.В. [3], Виноградова Л.В. [1]. Руководитель: Балабан П.М. [1])

1 – ФГБУН «Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии» РАН
2 – ФГАОУ ВО "Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова"
3 – ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта» РАН

email: Laylay.96@mail.ru

Наиболее представленной формой эпилепсии является височная эпилепсия, патогенез которой включает развитие склероза гиппокампа, поэтому актуальной научной задачей является восполнение пула погибших нейронов, особенно тормозных ГАМК-ергических интернейронов. Наиболее перспективной для этой задачи технологией считается перепрограммирование собственных не-нейрональных клеток в нейроны с помощью генной терапии.

В данной работе был использован вирусный вектор, экспрессирующийся специфично в реактивных астроцитах, кодирующий репортерный белок и транскрипционный фактор (ТФ), широко используемый в задачах прямого репрограммирования. Работа была выполнена на мышах самцах линии C57Bl6 возрастом 3 месяца (25-30 г). Контрольная и опытная группа для электрофизиологии содержала по 3 мыши, для иммуно-гистохимического анализа – по две мыши. Была отработана каинатная модель височной эпилепсии на мышах, при которой производится одностороннее внутригиппокампальное введение каината. Эффективность модели проверялась регистрацией эпилептиформной активности с помощью локальных потенциалов (ЛП) от имплантированных в гиппокампы макроэлектродов, а также морфологическим анализом срезов гиппокампа.

Через неделю после введения каиновой кислоты, в очаг эпилепсии был введен вирусный вектор. Для контрольной группы мышей он кодировал только репортерный белок, для опытной – ТФ. В течение последующих двух месяцев производилась запись ЛП с оценкой изменения электрической активности гиппокампа. Было обнаружено, что у мышей опытной группы динамика развития эпилептиформной активности была менее выражена, чем в контрольной группе.

Для оценки морфологических изменений трансформирующихся клеток, через 6 недель после вирусной инъекции проведена перфузия, извлечение мозга и изготовление срезов на вибратоме для четырёх мышей: контрольной и опытной группы. Предварительный анализ показал, что в опытной группе заражённые клетки приобретают признаки нейронов: округлые тела, наличие длинного отростка, в ряде случаев содержащего ГАМК. В контрольной группе индуцированные клетки оставались без изменений.

Полученные предварительные результаты позволяют предположить, что в очаге эпилепсии зараженные глиальные клетки трансформируются в интернейрон-подобные клетки и могут способствовать подавлению эпилептической активности.
Работа поддержана грантом МОН.

ОЦЕНКА ДВИЖЕНИЙ ВЗОРА ПРИ НАВИГАЦИИ ПО КАРТАМ РАЗНОГО ТИПА

Кушнир А.Б., Герасименко Н.Ю., Михайлова Е.С.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
Москва, Россия

e–mail: naya.kushnir@gmail.com

В процессе ориентирования по карте городской местности мы можем обратить внимание на различные элементы, представленные на ней, например, на названия улиц, условные обозначения различных городских объектов, или же сконцентрироваться на схематическом представлении карты в целом [1]. При том, в зависимости от уровня когнитивной нагрузки, фокус внимания на этих элементах и поведение взора могут меняться [2]. В настоящем исследовании мы оценивали влияние типа элементов карты (меток) на особенности поведения взора при выполнении различных задач навигации.

В эксперименте с регистрацией движений глаз приняли участие 40 здоровых испытуемых (20 мужчин, 20 женщин, 24.2±0.8 лет). В качестве стимульного материала использовали карты с вербальными метками, объектными метками и без меток. Для каждого типа карты испытуемые последовательно выполняли три задачи: ознакомление с картой, запоминание маршрута, и последующее зрительное воспроизведение маршрута. Регистрацию движений глаз осуществляли при помощи айтреккера SmartEyePro 5.9. Далее оценивали количество (КФ) и длительность фиксаций (ДФ). Полученные данные анализировали с помощью ANOVA RM с учетом факторов Карта (3 уровня) и Задача (3 уровня). Для post–hoc сопоставлений использовали Tukey–test.

Для обоих исследуемых параметров отмечены эффекты Карты (КФ - $F_{2, 74} = 15.52$, $p < 0.001$, $\eta^2_p = 0.29$; ДФ - $F_{2, 74} = 4.49$, $p = 0.01$, $\eta^2_p = 0.11$) и Задачи (КФ - $F_{2, 74} = 16.41$, $p < 0.001$, $\eta^2_p = 0.31$; ДФ - $F_{2, 74} = 10.76$, $p < 0.001$, $\eta^2_p = 0.22$). Для карты с вербальными метками отмечено большее КФ по сравнению с другими типами карт ($p < 0.01$), и меньшее ДФ только по сравнению с картами с объектными метками ($p = 0.01$). При воспроизведении показано наименьшее КФ ($p < 0.001$), но наибольшая ДФ ($p < 0.01$), по сравнению с другими задачами.

Полученные различия предположительно отображают изменение уровня внимания в процессе выполнения различных задач навигации с картами разного типа. Увеличение длительности фиксации взора при воспроизведении, согласно литературным сведениям, может быть связано с большим уровнем внимания и более глубокой проработкой объекта, на котором зафиксирован взор, и является показателем нахождения целевого стимула [3]. Увеличение количества фиксаций для карт с вербальными метками может быть связано как с включением процесса чтения названий улиц, так и большей сложностью работы с данным типом карты [2, 4].

1. Pazzaglia F., Moè A. Cognitive styles and mental rotation ability in map learning // Cogn. Process. 2013. V. 14, №4. P. 391–399.
2. Nazareth A., Huang X., Voyer D., Newcombe N. A meta–analysis of sex differences in human navigation skills // Psychon Bull Rev. 2019. V.26, №.5. P.1503–1528.
3. Brouwer A.M., Reuderink B., Vincent J., van Gerven M.A.J., van Erp J.B.F. Distinguishing between target and nontarget fixations in a visual search task using fixation–related potentials // J Vis. 2013. V. 13, № 3. P. 1–10.
4. Грачев В.И., Колесов В.В, Меньшикова Г.Я., Рябенков В.И. Физиологические аспекты восприятия визуальной информации глазодвигательным аппаратом // Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные технологии. 2021. Т.13, №.3. С.389–402.

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ АБСАНСНОЙ ЭПИЛЕПСИИ И ГЛУБОКОГО СНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА КАПЛАНА-МЕЙЕРА

И.А. Лазаренко, Е.Ю. Ситникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российская академия наук, Москва

e-mail: lazarenko_ia@ihna.ru

Ключевые слова: метод Каплана-Майера, глубокий сон, абсансная эпилепсия

Абсансная эпилепсия — это генетическое заболевание из группы идиопатических генерализованных эпилепсий, характеризующееся кратковременной потерей сознания без видимых двигательных проявлений. Основным диагностическим признаком является наличие высокоамплитудных генерализованных пик-волновых разрядов (ПВР) на электроэнцефалограмме (ЭЭГ).

Глубокий медленноволновый сон (ГС) определяется преобладанием высокоамплитудных медленных дельта-волн с частотой 0.5-4 Гц на ЭЭГ. Он играет важную роль в поддержании и восстановлении мозга и организма в целом. Генерализованные эпилепсии, включая абсансную, часто сопровождаются нарушениями сна. Приступы абсансной эпилепсии, проявляющиеся в виде ПВР, предположительно могут нарушать структуру ГС, вызывая его фрагментацию. В то же время ГС может способствовать либо препятствовать возникновению ПВР. В работе исследованы причинно-следственные взаимосвязи между ПВР и ГС с использованием взрослых крыс WAG/Rij, имеющих врожденную предрасположенность к абсансной эпилепсии.

Исследование выполнено на 22 крысах WAG/Rij (13 самок, 9 самцов в возрасте 10-15 месяцев) с использованием имплантированных эпидуральных электродов для регистрации электрокортикограммы (ЭКоГ). Были проанализированы 30 записей 6-часовых ЭКоГ, записанных в тёмную фазу суток (0:00-6:00). Для автоматизации анализа разработан метод распознавания ПВР и ГС с использованием градиентного бустинга, обеспечивающий высокую точность (f1-score >0.88). Проведён корреляционный анализ и анализ выживаемости методом Каплана-Мейера.

Корреляционный анализ выявил положительную связь между средней длительностью ПВР и числом эпизодов ГС, а также между продолжительностью промежутка между смежными эпизодами ГС и ПВР и длительностью последующей ПВР, но отрицательную связь между длительностью ПВР и общей продолжительностью глубокого сна. Следовательно, существует сложная, многокомпонентная взаимосвязь между ПВР и ГС. Для дальнейшего изучения этой взаимосвязи нами был выбран анализ выживаемости (survival analysis).

Анализ выживаемости методом Каплана-Мейера позволил оценить влияние ПВР на длительность предшествующего эпизода ГС. Эпизоды ГС были разделены на три группы: 1) с возобновлением ГС после ПВР, 2) с возобновлением ГС без ПВР и 3) без возобновления. В зависимости от длины окна, в пределах которого эпизод ГС считался возобновляющимся, вторая группа демонстрировала статистически значимую схожесть с третьей (>47 сек) группой, а также с первой (<30 секунд) при исключении длинных эпизодов ГС.

Возможная интерпретация результатов: менее фрагментированный глубокий сон способствует подавлению ПВР, а сами ПВР способствуют прерываниям и фрагментации глубокого сна, схожими с естественными.

Мы благодарим сотрудников Сибирского центра изучения искусственного интеллекта и цифровых технологий Томского государственного университета за неоценимый вклад в разработку метода распознавания ПВР и глубокого сна на ЭКоГ.

О РЕКОНСТРУКЦИИ ПАРАМЕТРОВ КОРТИКАЛЬНОЙ БЕГУЩЕЙ ВОЛНЫ ПО ДАННЫМ МЭГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УРАВНЕНИЙ НЕЙРОННОГО ПОЛЯ С НАПРАВЛЕННО ИЗМЕНЯЕМЫМИ ПАРАМЕТРАМИ ВОЗБУЖДЕНИЯ И ТОРМОЖЕНИЯ

Мальков И.Н.[1], Верхлютов В.М.[2]

1 Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия,
2 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: i.n.malkov@yandex.ru

Цель исследования – реконструкция параметров бегущих волн в коре головного мозга по данным магнитоэнцефалограммы (МЭГ) при стимуляции срединного нерва. Для решения задачи применена модель нейронного поля типа Амари с учётом направленной изменчивости параметров возбуждения и торможения.

$$\partial_t u(t,x) = \int_R \quad \omega(x,y) f\big(u(t,y)\big) dy,$$
$$1/\epsilon\, \partial_t v(t,x) = u(t,x) - \sigma v(t,x),$$
$$t \geq 0, x \in R, \sigma > 0, 0 < \epsilon \ll 1$$

Функция $u(t,x)$ описывает уровень электрической активности нейронного поля в момент времени t и в позиции x. Функция связности ω определяет силу межнейронных связей, в то время как $f(u)$ представляет вероятность срабатывания нейрона с уровнем активности u. Функция v описывает медленную отрицательную обратную связь относительно нервного возбуждения (т.е. ϵ), скорость затухания которой контролируется параметром σ, который мы определяем как относительную силу торможения. Заметим, что более высокие значения σ соответствуют более слабым ингибирующим эффектам в нейронной среде.

Методика включает разбиение поверхности коры на сектора, моделирование волнового процесса в каждом секторе и решение обратной задачи через минимизацию ошибки между расчётными данными модели и экспериментальными данными. Для локализации эпицентра использовали анализ карты ошибок (рис 1,2).

Результаты показали, что учёт направленной изменчивости параметров обеспечивает лучшее совпадение модели с экспериментальными данными. Найденный эпицентр отличается от предполагаемого менее чем на 0,5 см, а распределение скорости и силы торможения по секторам отражает неоднородность корковой среды (Malkov et al., 2025).

Предложенный подход позволяет более точно интерпретировать данные МЭГ и в будущем может быть использован для разработки интерфейсов «мозг–компьютер».

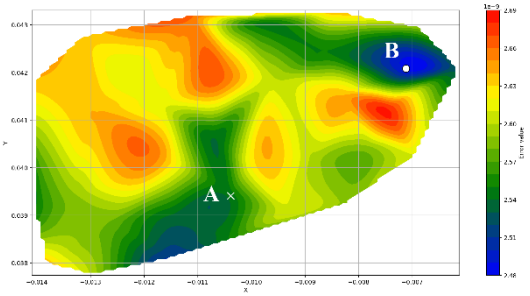

Рис. 1 Градиент распределения ошибок: крестик (A) – предполагаемый эпицентр, кружок (B) – найденный эпицентр при вариации силы тормозящих эффектов

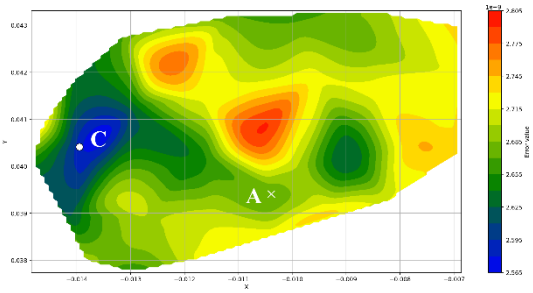

Рис. 2 Градиент распределения ошибок: крестик (A) – предполагаемый эпицентр, кружок (C) – найденный эпицентр при вариации параметров функции межнейронных связей

1) Malkov I., et al., On Reconstruction of Cortical Traveling Wave Parameters from MEG Data Using Neural Field Equations with Directionally Variable Excitation and Inhibition Parameters. Studies in Computational Intelligence. 2025. V. 1241. In press.

КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС ЛИНИЙ WKY, SHR и WISTAR ПОСЛЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

Мамедова Д.И., Недогреева О.А., Квичанский А.А., Третьякова Л.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва, Россия

e-mail: mamedova.diana@ihna.ru

Хронический стресс является важным фактором, способствующим усилению патологических процессов в мозге представителей старшей возрастной группы. У человека хронический изоляционный стресс (ХИС) при старении вызывает серьезные нарушения физического и психического здоровья, однако влияние социальной изоляции на поведение и когнитивные процессы стареющих животных остается малоизученным. Ранее было показано, что индивидуальное содержание самцов крыс линий WKY, SHR и Wistar в непрозрачных, тесных клетках в течение 3 месяцев (с 10 по 13 месяцы жизни) приводило к когнитивным нарушениям. В частности, было показано, что в ходе обучения поиску скрытого убежища в лабиринте Барнс хуже всего обучались крысы изолированные крысы SHR. При тестировании сохранности памяти именно в этой группе крыс наблюдались наиболее выраженные нарушения. Изолированные крысы линий WKY и SHR не могли сформировать память о новом месте входа в убежище в процессе переучивания, демонстрируя снижение когнитивной подвижности.

Целью данного этапа работы было исследование морфологических изменений в гиппокампе крыс и экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов (ФНОα, ИЛ-1β и ИЛ-6) в гиппокампе и фронтальной коре животных разных экспериментальных групп. Морфологические изменения оценивали по плотности нейронов, астроцитов и микроглиоцитов в регионах CA1 и CA3 гиппокампа, подсчитанных на срезах мозга после тройной иммуногистохимической детекции типов клеток. В качестве маркеров использовали белки NeuN (нейроны), GFAP (астроциты), Iba1 (микроглия). Содержание транскриптов мРНК определяли методом ПЦР в реальном времени.

Анализ числа нейронов в области дорсального гиппокампа выявил межлинейные различия. Так, плотность нейронов в поле CA1 гиппокампа была значимо ниже у крыс Wistar, чем у крыс линий WKY и SHR. В поле CA3 число нейронов выше у крыс линии WKY, чем у крыс линии SHR, при этом отличий от крыс Wistar не было найдено. Анализ плотности астроцитов в исследованных полях гиппокампа не выявил различий между группами. Плотность микроглиальных клеток в поле CA1 была выше у крыс линии SHR по сравнению с крысами линии WKY, и отличий от крыс линии Wistar также не было обнаружено. Не было выявлено влияния изоляции на плотность клеток в исследованных отделах гиппокампа.

Исследование содержания мРНК генов, кодирующих цитокины, также выявило различия между генотипами. В контрольных группах уровни мРНК *Il-1b* и *Il-6* были выше в гиппокампе крыс WKY и SHR по сравнению с Wistar. После изоляции эти различия в основном сохранялись. Во фронтальной коре такие различия между генотипами наблюдали только для мРНК *Il-6*. Изоляция повышала экспрессию мРНК *Tnfa* во фронтальной коре только крыс SHR.

Таким образом, выявленные после изоляции нарушения обучения и памяти у крыс не были связаны с утратой нейронов гиппокампа или астро- и микроглиозом, поскольку изоляция не приводила к выраженной утрате клеток. Были установлены зависимые от генотипа значимые различия в экспрессии генов провоспалительных цитокинов. Можно предположить, что у изолированных крыс линии SHR нарушение формирования пространственной памяти могли быть ассоциированы с усилением экспрессии ФНО-α во фронтальной коре.

МОДЕЛИРОВАНИЕ СЛАБОЙ АССОЦИАТИВНОЙ ПАМЯТИ У МЫШЕЙ: ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЕЁ УСИЛЕНИЮ

Масленникова Д.Д.[1,2], Евдокимов М.Д.[1,3], Торопова К.А.[1], Ивашкина О.И.[1], Анохин К.В.[1]

1 Институт перспективных исследований мозга МГУ имени М.В. Ломоносова
2 Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
3 Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева

e-mail: dmaslennikova56@gmail.com

Память, которая способна сохраняться и проявляется в поведении лишь ограниченное время, а затем спонтанно угасает, называется слабой. Слабая память может формироваться как в норме у здоровых людей и животных, так и ослабевать при состояниях, сопровождающихся нарушениями пластичности и консолидации (старение, деменция, когнитивные расстройства). Различные вариации модели условно-рефлекторного замирания (УРЗ) позволяют воспроизводимо варьировать различные факторы, определяющие слабую память. Фармакологическая модуляция – удобный способ модуляции слабых следов памяти, но эффект разных агентов может быть зависимым от конкретной модели обучения. Исходя из этого, мы системно сопоставили действие нескольких когнитивных энхансеров (КЭ) в ряде модификаций УРЗ, чтобы установить, какие дефициты поддаются фармакологической коррекции и при каких параметрах вмешательства слабая память может быть усилена.

Для возможного усиления слабой памяти были использованы когнитивные энхансеры: частичный агонист NMDA-рецепторов D-циклосерин (ДЦС) и ингибитор гистоновых деацетилаз бутират натрия (БН). В работе использовали мышей линии C57Bl/6J.

Первой модификацией УРЗ было слабое обучение на обстановку: животное получает электро-кожное раздражение (ЭКР) ослабленной силы. Были проведены эксперименты на молодых (2-3 мес.) и на старых мышах (20-24 мес.), в каждом эксперименте использовано три группы мышей: первой группе вводили физраствор (ФР) перед сильным обучением, второй группе - ФР перед слабым обучением, третьей - ДЦС перед слабым обучением. Было показано, что ДЦС не способствовал усилению памяти, так как, вероятно, в данной модели выраженность памяти связана с силой страха, а не с силой ассоциативной связи.

Другой модификацией УРЗ является дефицит немедленного шока (ДНШ): животное получает ЭКР мгновенно при помещении в обстановку, при этом у животного не формируется ассоциативная связь между обстановкой и ЭКР, несмотря на то, что после ЭКР животное оставляют в обстановке на несколько минут. В эксперименте использовали следующие группы обучения: (1) ФР перед сильным обучением, (2) ФР перед ДНШ, (3) ДЦС/БН перед ДНШ. Показано, что оба КЭ не способствовали усилению слабой памяти при ДНШ.

Следующей моделью была модификация УРЗ с короткой предэкспозицией к обстановке. Известно, что способность животного ассоциировать обстановку с безусловным стимулом зависит от длительности предэкспозиции. Было несколько групп животных с разной длительностью предэкспозиции, в качестве КЭ использован БН. Показано, что БН усиливает формирование долговременной памяти при длительности предэкспозиции в 1 минуту.

Последней моделью являлось слабое обучение на условный сигнал (УС), в которой звуковой сигнал был коротким и не перекрывался с ЭКР. В данной модели было использовано три группы животных: (1) ФР перед сильным обучением, (2) ФР перед слабым обучением, (3) ДЦС перед слабым обучением. В результате было выявлено усиление слабой памяти об УС при введении ДЦС, что может быть связано с его способностью активировать NMDA-рецепторы на нейронах, вовлеченных в запоминание.

Представленные данные свидетельствуют о гетерогенности слабой ассоциативной памяти и об отсутствии универсального фармакологического средства её усиления. Эффективность КЭ определяется лимитирующими условиями обучения, что обуславливает необходимость разработки направленных стратегий коррекции слабой памяти.

СРАВНЕНИЕ РАЗНЫХ СПОСОБОВ ОБРАБОТКИ ЦИФРОВЫХ ИЗОБРАЖЕНИЙ МИКРОГЛИИ

Мелега С.А.[1], Манолова А.О.[2]

1 Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Россия,
2 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук

e-mail: melegasa22@oiate.ru

Исследование морфо-функциональных преобразований микроглии в условиях экспериментального нейровоспаления с применением метода фрактального анализа применимо для количественной оценки изменений глиальных клеток и установления корреляций между структурными изменениями микроглии и нарушениями функций ЦНС. Понимание того, как нейровоспаление вызывает нарушение функций ЦНС, позволит разработать эффективные методы лечения постстрессорных патологий.

Микроглиальные клетки выступают центральными эффекторами нейровоспалительного каскада, инициируемого стрессорными воздействиями. В норме микроглия выполняет функции иммунного мониторинга и поддержания гомеостаза нервной ткани. Однако воздействия в раннем онтогенезе, приводящие к активации микроглии, могут изменять порог активации этих клеток в течение всей последующей жизни. Вследствие этого хронический или интенсивный стресс во взрослом возрасте будет с большей вероятностью приводить к патологической активации микроглии, что, в свою очередь, увеличивает вероятность нейродегенеративных изменений ткани мозга.

Переход микроглии в активированное состояние сопровождается структурными преобразованиями: от разветвленного «покоящегося» фенотипа к амебоидным формам с фагоцитарной активностью. Метод фрактального анализа демонстрирует высокую чувствительность в оценке различий структурных состояний микроглии. Снижение фрактальной размерности клеток объективно отражает степень их активации и может служить количественным маркером интенсивности нейровоспалительного процесса. Оценка фрактальной размерности клеток проводится на преобразованных в бинаризованные изображения цифровых фотографиях клеток. Процесс преобразования может значительно влиять на итоговое значение фрактальной размерности клетки. Целью работы было выявление отклонений в оценке фрактальной размерности при использовании различных способов предварительных преобразований микрофотографий.

Изначальные микрофотографии были получены из эксперимента с введением липополисахарида крысятам на первой постнатальной неделе. Срезы мозга были окрашены флуоресцентно иммуногистохимически антителами к белку Iba-1. Микрофотографии были получены с помощью микроскопа AxioImager.Z2 и цифровой камеры MRm (Zeiss) из полей CA1, CA3 и хилуса зубчатой фасции гиппокампа. Обработку микрофотографий проводили с помощью программного пакета ImageJ, в том числе фрактальную размерность оценивали с использованием плагина FracLac.

Исследование морфо-функциональных преобразований микроглии в условиях экспериментального нейровоспаления с применением метода фрактального анализа является перспективным инструментом для доклинического скрининга нейропротективных соединений. Полученные данные помогут в выборе наиболее оптимального способа оценки активации микроглиальных клеток, который будет способствовать ускорению обработки результатов доклинических экспериментов и повышению их объективности.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ЭМПАТИИ И ПСИХОПАТИИ ОТРАЖАЮТСЯ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МОЗГОВОЙ СВЯЗНОСТИ ПРИ ВОСПРИЯТИИ БОЛИ

Д.Г. Митюрева[1*], С.М. Скрипкина[2], В.Д. Абросимова[2], В.М. Зубко[2], Е.В. Кривченкова[2], Д.М. Верхолаз[2], П.И. Кабанова[2], А.В. Комарова[2], А.А. Кисельников[2]

[1]Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН
117485, Москва, ул. Бутлерова, 5А, стр.1
[2]Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет психологии
125009, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 9

E-mail: dina.mitiureva@gmail.com

Способность проявлять эмпатию к боли другого – основополагающее свойство здоровой психики, а ее нарушение приводит к антисоциальному поведению, что наблюдается при клинической психопатии. Определение нейрональных маркеров сниженных эмпатических способностей может быть использовано для создания протоколов диагностики и коррекции антисоциальных черт. В большинстве электрофизиологических исследований эмпатии использовались методы вызванных потенциалов и спектрального анализа (супрессия мю-ритма), однако они не позволяют проследить аспект индивидуальных различий и определить, как скоординирована активность мозговых структур при восприятии боли. Цель настоящего исследования – определить как личностные черты, связанные с эмпатией – диспозиционная эмпатия и психопатия – отражаются в паттернах функциональной мозговой связности при восприятии боли другого.

Выборка участников составила 84 человека. Участники заполнили опросники: многофакторный опросник эмпатии (IRI) и краткий опросник темной триады. Во время регистрации ЭЭГ (63 отведения) участникам случайно по 60 раз предъявлялись двухсекундные видеозаписи реакции на удар током и движений пальцев руки. Расчёт функциональной связности проводился с использованием wPLI [1] в тета-, альфа- и бета-диапазонах между корковыми источниками (eLORETA). По мета-анализам фМРТ-исследований были определены ключевые корковые структуры, вовлеченные в эмпатию к боли: островок, передняя поясная кора, верхняя лобная извилина – в обоих полушариях, супрамаргинальная (SMG), прецентральная (PCG) и нижняя теменная извилины в левом полушарии [2-3]. Для этих структур была рассчитана метрика центральности (eigenvector). Также анализировались отдельные функциональные связи (ФС) пар структур. Статистический анализ проводился методом полу-частичной корреляции, где значения в экспериментальном условии – предиктор, в контрольном – контролируемая переменная, а значения по психологическим шкалам – зависимая переменная. Приведены результаты значимые на уровне $p<0.05$ после поправки FDR.

Было обнаружено, что центральность левой PCG в тета-диапазоне коррелирует с баллом по шкале эмпатической заботы IRI (R=0.3). На уровне отдельных связей, данная шкала коррелирует с ФС левой SMG с левой нижней теменной долькой (IPL) (альфа-диапазон, R=0.3). Психопатия коррелирует отрицательно с ФС правого островка с левой IPL (бета-диапазон, R=-0.3).

Так, чем больше центральность левой PCG в тета-диапазоне при восприятии боли другого, тем выше эмпатичность. Это может обуславливаться более выраженным зеркальным моторным резонансом, при котором PCG образует более сильные ФС с другими областями коры для моделирования состояния другого. Большая связность SMG-IPL при выраженной диспозиционной эмпатии может свидетельствовать о задействовании механизма различения собственных и чужих сенсомоторных репрезентаций [2, 4]. Островок считается ключевой структурой восприятия боли [5]. Он также отражает висцеральные эмоциональные состояния и, таким образом, играет ключевую роль в аффективной эмпатии. В то же время IPL отвечает за когнитивный компонент эмпатии [2, 4].

Следовательно, снижение связности может свидетельствовать о том, что при высокой диспозиционной психопатии нарушается взаимодействие между данными компонентами эмпатического отклика, что приводит к сниженной способности проявлять сочувствие.

Таким образом, данные результаты расширяют понимание мозговых механизмов эмпатии к боли за пределы стандартных показателей сенсомоторного резонанса и проливают свет на их индивидуальные различия.

Литература

1. Vinck, M., Oostenveld, R., Van Wingerden, M., Battaglia, F., Pennartz, C. M. An improved index of phase-synchronization for electrophysiological data in the presence of volume-conduction, noise and sample-size bias //Neuroimage. – 2011. – V. 55. – №. 4. – P. 1548-1565 https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.01.055
2. Fallon N., Roberts C., Stancak A. Shared and distinct functional networks for empathy and pain processing: a systematic review and meta-analysis of fMRI studies // Social cognitive and affective neuroscience. – 2020. – V. 15. – №. 7. – P. 709-723. https://doi.org/10.1093/scan/nsaa090
3. Kogler, L., Muller, V. I., Werminghausen, E., Eickhoff, S. B., Derntl, B. Do I feel or do I know? Neuroimaging meta-analyses on the multiple facets of empathy // Cortex. – 2020. – V. 129. – P. 341-355. https://doi.org/10.1016/j.cortex.2020.04.031
4. Molenberghs, P., Johnson, H., Henry, J. D., Mattingley, J. B. Understanding the minds of others: A neuroimaging meta-analysis // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2016. – V. 65. – P. 276-291 https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.03.020
5. Li, Y., Zhang, T., Li, W. et al. Linking brain structure and activation in anterior insula cortex to explain the trait empathy for pain //Human brain mapping. – 2020. – V. 41. – №. 4. – P. 1030-1042 https://doi.org/10.1002/hbm.24858

ОБУЧЕНИЕ МЫШЕЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ ЗАДАЧЕ СОПРОВОЖДАЕТСЯ СМЕЩЕНИЕМ ОРИЕНТАЦИОННЫХ НАСТРОЕК НЕЙРОНОВ V1 В СТОРОНУ НЕПОДКРЕПЛЯЕМОГО СТИМУЛА

Морозов С.А.[1,2], Смирнов И.В.[2], Латанов А.В.[1], Малышев А.Ю.[2]

[1] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия,
[2] Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: StanislavMorozov2001@yandex.ru

Известно, что функциональные свойства нейронов первичной зрительной коры (V1) изменяются в ходе обучения. На сегодняшний день остаётся неясным, необходима ли пластичность V1 только для формирования памятного следа, или она также участвует в долговременном хранении памяти при зрительном обучении. Для ответа на этот вопрос мы исследовали изменение ориентационной настройки нейронов первичной зрительной коры мышей в ходе обучения в задаче дискриминации зрительных стимулов в водном лабиринте. Лабиринт имел трапециевидную форму и был разделён на два рукава. В конце рукава, где были изображены вертикальные полосы (подкрепляемый стимул), находилась скрытая платформа, куда мыши могли выбраться. Во втором рукаве предъявляли горизонтальные полосы (неподкрепляемый стимул). Ориентационные настройки нейронов определяли в периоды до начала обучения, между этапами обучения и после завершения обучения. Для этого проводили запись активности нейронов 2/3 слоя первичной зрительной коры методом кальциевого имиджинга во время стимуляции движущимися полосами различных ориентаций. Регистрацию проводили на наркотизированных животных с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа. Используя ответы нейронов, строили кривые их ориентационных настроек.

На основании данных литературы мы ожидали, что после обучения ориентационные настройки нейронов сместятся в сторону подкрепляемой ориентации. Однако после усвоения мышами поведенческого навыка нейроны V1 стали, наоборот, сильнее реагировать на стимулы неподкрепляемой ориентации. Возможно, это было связано с тем, что мыши больше используют неподкрепляемый стимул для ориентации в лабиринте. Заплывание мышей в рукав лабиринта без платформы (с неподкрепляемым стимулом) увеличивает время пребывания животных в воде, что может служить сильным негативным подкреплением. Для проверки этого предположения мы обучили дополнительную группу мышей. После окончания основного обучения был проведён тест, в котором животные должны были выбрать рукав лабиринта со стимулом новой ориентации (диагональные полосы) или с неподкрепляемым стимулом (горизонтальные полосы). Мыши в тесте избегали рукав с неподкрепляемым стимулом статистически значимо чаще уровня случайного угадывания. Это может указывать на то, что мыши в данном эксперименте действительно могут ориентироваться на неподкрепляемый стимул для поиска скрытой платформы, что отражается в изменении ориентационных настроек нейронов.

Интересно, что через неделю у части животных ориентационная настройка нейронов V1 вернулась к исходному состоянию. При этом поведенческий навык у них сохранялся как минимум две недели после обучения. Это позволяет предположить, что пластичность первичной зрительной коры принимает участие в зрительном обучении на начальном этапе, тогда как долговременное хранение памятного следа может обеспечиваться более высокоуровневыми областями.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НЕЙРОНОВ ВЫЗВАННОЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА KCNN4

Обласов И.А., Никитин Е.С.

Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН

E–mail: rocketeer.72.00@gmail.com

Генная терапия рассматривается как перспективный метод лечения фармакорезистентной эпилепсии, от которой страдает около 30% пациентов. Один из подходов направлен на снижение возбудимости нейронов путем искусственной экспрессии калиевых каналов, которые эффективно гиперполяризуют нервные клетки, подавляя их избыточную активность. Однако в настоящее время остро стоит вопрос о влиянии чрезмерной экспрессии каналов K+ на физиологию клеток. Кальций-активируемый калиевый канал KCa3.1, кодируемый геном KCNN4, представляет большой интерес для генной терапии. Его ключевое преимущество заключается в том, что он вызывает медленную кальций-зависимую гиперполяризацию. Это подавляет способность нейронов генерировать высокочастотные разряды потенциалов действия, которые характерны для эпилептических приступов, при этом не нарушая их нормальную низкочастотную активность, ответственную за кодирование информации [1].

Ранее было показано, что при эпилептических расстройствах функциональность CP-AMPA-рецепторов усиливается, и в то же время Ca2+-проницаемые AMPA-рецепторы (CP-AMPA) могут выступать в качестве источника повышенного Ca2+ в цитоплазме. Однако, связь между каналами KCa3.1 и CP-AMPA-рецепторов плохо изучена, и их потенциальное взаимодействие при эпилепсии остается неясным. Эксперименты по применению внутриклеточных блокаторов показали, что амплитуда гиперполяризации сильно зависит от CP-AMPA-рецепторов. В то же время связь амплитуды гиперполяризации и NMDA-рецепторов не была выявлена. Более того подпороговое повышение Ca^{2+}, вызванное CP-AMPA-рецепторами, может запускать каналы KCa3.1 для гиперполяризации нейронов и защиты их от судорог [2].

Интерес представляют и побочные эффекты индуцированной экспрессии, поэтому стоит достаточно осторожно подходить к регуляции экспрессии KCNN4, так как помимо позитивного эффекта могут наблюдаться и негативные изменения, вызванные чрезмерной экспрессией трансгена. Ряд моделей генной терапии на грызунах дали многообещающие результаты, однако текущие используемые методы вирусной доставки трансгенов не обеспечивают внешнего контроля над экспрессией, что может привести к перепроизводству субъединиц K+ каналов. Нами было показано, что при более высоких уровнях экспрессии количество каналов на клеточной мембране уменьшается, в то время как индуцированная экспрессия канала KCa3.1 демонстрирует пик на кривой эффективности. Кроме того, чрезмерная экспрессия KCNN4 приводит к снижению доступности других каналов на мембране клетки и нарушению их функциональности. Это может приводить к ухудшению электрофизиологических параметров клетки, таких как длительность ПД и скорость нарастания ПД, что может быть критически важным для нормального функционирования ЦНС [3].

Литература

1. Nikitin, E., et al., *Overexpression of KCNN4 channels in principal neurons produces an anti-seizure effect without reducing their coding ability.* Gene Therapy, 2023. **31**.
2. Oblasov, I., et al., *Ca2+-permeable AMPA receptor-dependent silencing of neurons by KCa3.1 channels during epileptiform activity.* Biochemical and Biophysical Research Communications, 2024. **733**: p. 150434.
3. Bal, N., et al., *Potassium KCa3.1 channel overexpression deteriorates functionality and availability of channels at the outer cellular membrane.* Scientific Reports, 2025. **15**: p. 4928.

СЕНСОРНАЯ ДЕПРИВАЦИЯ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ ВЛИЯЕТ НА ДИНАМИКУ РАННИХ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И СОЗРЕВАНИЕ МИКРОГЛИИ В ГИППОКАМПЕ

Одринская М.С., Манолова А.О., Мидзяновская И.С., Раевский В.В., Гуляева Н.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: odrinskai@mail.ru

Ключевые слова: онтогенез; вибриссэктомия; пространственное поведение; микроглия.

Постнатальный онтогенез характеризуется последовательным формированием сенсорных систем, ассоциированных с появлением первых поведенческих реакций. Структурная организация систем проведения и восприятия афферентации от вибрисс завершается к 9-му постнатальному дню (ПД), и с этого момента вибротактильная сенсорная информация участвует в развитии, и адаптации организма. Целью нашей работы было изучение последствий ограничения сенсорной афферентации в течение 2-й недели постнатального онтогенеза у крыс на поведенческом и клеточном уровнях.

Работа выполнена на крысах Wistar, подвергнутых однократной вибриссэктомии. На 9-й ПД крысята были разделены на три группы: интактные (Int), ложно вибриссэктомированные (Sham) и вибриссэктомированные (VE). В тесте «Открытое поле» в течение 3 минут на 10, 14, 18-й ПД оценивали развитие пространственного поведения и эмоциональные реакции на стресс новизны, после которого производили забор биоматериала. Исследование морфологии микроглии и уровня миелинизации было проведено на фронтальных срезах мозга толщиной 50 мкм, которые иммуногистохимически окрашивали антителами к маркерам микроглии (ионизированная кальций-связывающая адаптерная молекула 1, Iba-1) и миелина (основной белок миелина, MBP). Проводили оценку фрактальной размерности (ФР) микроглии в stratum radiatum поля CA1 гиппокампа и корковом представительстве вибрисс (S1BF), а также степени миелинизации волокон соматосенсорной коры с использованием программы ImageJ/Fiji. Статистический анализ проводили с помощью дисперсионного анализа. Для корреляционного анализа использовали метод Спирмена. Статистический анализ данных проводили в программном пакете Statistica 10 и программе R-Studio.

На 10-й ПД крысята из группы VE значимо больше замирали в тесте «открытое поле» по сравнению с группами Int и Sham ($p=0.02$). Было выявлено увеличение плотности популяции микроглии в гиппокампе у группы VE, по сравнению с контрольными ($p=0.01$). На 14-й ПД в группе VE по сравнению с группами Sham и Int площадь, занимаемая траекторией перемещения в центре «открытого поля», была значимо меньше ($p=0.03$), а число замираний значимо больше ($p=0.03$). На 18-й ПД не было обнаружено межгрупповых различий в исследованных поведенческих показателях. Корреляционный анализ выявил статистически значимую положительную корреляцию между массой тела и ФР микроглии поля CA1 гиппокампа в группах Int и Sham ($r=0.68$ при $p=0.004$ и $r=0.70$ при $p=0.002$, соответственно) в ходе постнатального развития. В группе VE данная зависимость не выявлена ($r=0.30$ при $p=0.232$), что может свидетельствовать об изменении созревания микроглиальных клеток гиппокампа при сенсорной депривации в раннем постнатальном онтогенезе. Автоматический анализ экспрессии MBP в слоях IV и II/III сенсомоторной коры не выявил различий между группами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ограничение видоспецифической вибротактильной чувствительности в течение второй недели постнатального онтогенеза вызывает изменение пространственного поведения у 14-дневных крысят и нарушение координации созревания физиологических функций организма и глии в гиппокампе. Полученные данные подтверждают гипотезу о критической роли соматосенсорного опыта в постнатальном онтогенезе для развития адаптивного поведения и формировании интегративных функций гиппокампа.

СИГНАЛЬНЫЕ КАСКАДЫ ОКСИДА АЗОТА И ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ КАК ВОЗМОЖНЫЕ МЕДИАТОРЫ СЕНСОРНОЙ ТРАНСДУКЦИИ У БЕЗНЕРВНОГО ЖИВОТНОГО *TRICHOPLAX ADHAERENS*

***Повернов А.А.*[1]**

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: aapow@yandex.ru

Мы исследовали роль сигнальных путей оксида азота (NO) и циклических нуклеотидов в модуляции локомоции у безнервного животного *Trichoplax adhaerens* – ключевого организма для изучения эволюции нервной системы и древних механизмов чувствительности.

Для анализа использовались вещества, точечно воздействующие на разные звенья сигнального пути: 1) стимуляторы NO-сигнального пути: L-аргинин и DEA NONOate в количестве 0,5 и 1 мкг; 2) неорганические доноры азота: $NaNO_2$ и $NaNO_3$ при pH = 7, pH = 8; 3) ингибиторы NO-сигнального пути: AMT (альфа-метилтриптамин), который подавляет синтез NO из L-аргинина, и ODQ – ингибитор основного рецептора NO – растворимой гуанилатциклазы; 4) аналоги вторичных посредников: cAMP, cGMP и их равнообъемная смесь.

Для создания окончательного рендера, 900 кадров, извлеченных из 30-минутных видеозаписей, были обработаны в Adobe Photoshop. Полученные видеоряды были впоследствии проанализированы с помощью специализированных плагинов Fiji/ImageJ для количественной оценки параметров движения, включая координаты траектории, скорость и общее пройденное расстояние, ускорение, углы поворотов, перемещение и прямолинейность движения для каждого организма. Абсолютная и относительная энтропии углов поворотов были рассчитаны при помощи пакета NeuroKit2. Для статистического анализа использовался программный пакет Statistica 7.0. Для выявления различий между группами использовался дисперсионный анализ Краскела—Уоллиса. Для определения наличия направленности движения были выполнены тест Рэлея и V-тест для каждого кадра и для суммы по 10 кадрам в среде Jupyter Notebook. Для выявления наличия эффекта памяти был выполнен анализ марковских цепей.

Результаты: все группы веществ статистически значимо повысили дистанцию, проходимую животными, их скорость, среднюю величину угла поворота, а также абсолютную и относительную энтропию углов поворотов. Донор NO DEA NONOate показал наибольшее увеличение всех вышеперечисленных параметров, кроме энтропий, среди всех использованных веществ. Ингибиторы сигнального пути оказали умеренное влияние на локомоцию, наибольшее отличие от контроля показал AMT. DEA NONOate и ингибиторы AMT и ODQ показали уменьшение параметров «перемещение» и «прямолинейность движения» относительно контроля. Тест Рэлея выявил наличие направленности движения у донора NO DEA NONOate, а результаты V-теста не показали предпочтительных направлений движения у экспериментальных групп.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-14-00050, https://rscf.ru/project/23-14-00050/.

АНАЛИЗ СИСТЕМНЫХ И КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМОВ ЗРИТЕЛЬНОЙ КАТЕГОРИЗАЦИИ У ЦЫПЛЯТ (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*)

Пузик М.А.[1], Диффинэ Е.А.[1,2], Дживеликян Е.А.[3], Тиунова А.А.[2], Анохин К.В.[2]

[1] *Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,*
[2] *Институт перспективных исследований мозга МГУ имени М.В. Ломоносова,*
[3] *Московский физико-технический институт, Центр когнитивного моделирования*

e-mail: puzikmatvej0513@gmail.com

Категоризация представляет собой когнитивный процесс, который лежит в основе способности классифицировать объекты, то есть воспринимать схожие, но не идентичные стимулы как эквивалентные. Эта фундаментальная когнитивная функция реализуется биологическими системами различных уровней и позволяет присваивать функциональные атрибуты объектам окружающего мира [1].

Для исследования зрительной категоризации у птиц использовали модель быстрого обучения на «бусиничном полу» [2]. Двухдневных цыплят помещали в камеру, на полу которой были приклеены бусины разных цветов и рассыпан корм. В ходе обучения, занимавшего 5-10 минут, птицы формировали категорию «несъедобных объектов» (бусин) и относили к этой категории все бусины в камере. В эксперименте показано, что цыплята успешно включали в ранее сформированную категорию объекты нового цвета. Для анализа процесса обучения использовалась модель скрытых марковских цепей (Hidden Markov Model), позволившая выявить скрытые состояния, отражающие логику принятия решений [3]. Далее был разработан новый дизайн эксперимента, в котором цыплятам последовательно предъявляли три разных бусиничных пола с бусинами одного цвета. В каждом эпизоде обучения использовался пол с новым цветом бусин. Целью такого последовательного предъявления было определение момента формирования категории в процессе обучения. Результаты показали, что при последовательном предъявлении также формируется категория, но алгоритм категоризации зависит от последовательности предъявления цветов. Этот феномен может быть связан как с врожденными функциональными системами цыплят, так и с их индивидуальным опытом.
Затем методом иммуногистохимического выявления белка c-Fos сравнили паттерны транскрипционной активации при обучении: в Wulst (гиперпаллиум) - областях HA и HD, относящихся к таламофугальному зрительному пути и участвующих в анализе формы стимулов, пространственной ориентации и интеграции бинокулярной информации; в мезопаллиальных областях, связанных с ассоциативной обработкой зрительных характеристик и обобщением категорий; а также в медиальном стриатуме (MSt), осуществляющем моторную интеграцию. Результаты показали, что категоризационное обучение на бусиничном полу, в том числе монохромном, индуцирует экспрессию c-Fos в высших центрах зрительной обработки, вовлечённых в зрительную категоризацию у цыплят.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Некоммерческого фонда содействия развитию науки и образования ИНТЕЛЛЕКТ, а также при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы "Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект" МГУ имени М.В. Ломоносова.

Диффинэ Е.А., Тиунова А.А., Анохин К.В. Зрительная категоризации у птиц // Журн. ВНД. 2025. – Т. 75. – № 2. – С. 131–152.

Tiunova A., Anokhin K., Rose S., Mileusnic R. Involvement of glutamate receptors, protein kinases, and protein synthesis in memory for visual discrimination in the young chick // Neurobiology of Learning and Memory. 1996. – Т. 65. – № 3. – С. 233–234.

Dzhivelikian E. Latyshev A., Kuderov P. Panov A. Hierarchical intrinsically motivated agent planning behavior with dreaming in grid environments // Brain Informatics. 2022. – Т. 9. – № 1. – С. 8.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ЛОКАЛЬНОЙ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ТЕРМИНАЛЕЙ ПРЕСИНАПТИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СВЕТОАКТИВИРУЕМОГО ХЛОРНОГО КАНАЛА GTACR2

А.В. Ратновский[1], Н.А. Симонова[2], А.Ю. Малышев[2]

[1]Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Москва, Россия
[2]Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Оптогенетические методы стимуляции синаптических входов позволяют добиться высокой разрешающей способности, что подходит для изучения различных параметров возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП) в пространстве. Однако экспрессия в сети пресинаптических нейронов широко распространенного канального родопсина2 (ChR2) затрудняет селективную стимуляцию отдельных пресинаптических входов ввиду того, что канальный родопсин равномерно экспрессируется по всем отросткам клетки, включая дендриты и аксоны, и световая стимуляции даже небольшого участка среза может приводить к одновременной активации нескольких пресинаптических нейронов. Помимо этого, ChR2 проницаем для ионов кальция, что приводит к большему подъему его концентрации при генерации потенциала действия. Это, в свою очередь, влияет на параметры постсинаптических ответов, например, превращая парную фасилитацию в парную депрессию при стимуляции коллатералей Шафера.

Было показано, что световая стимуляция терминалей нейронов, экспрессирующих светоуправляемый хлорный канал GtACR2 приводит к локальной генерации потенциалов действия в терминалях. Происходит это вследствие высокой внутриклеточной концентрации ионов хлора в пресинаптических окончаниях. Это свойство GtACR2 оказалось возможным использовать для локальной стимуляции пресинаптических входов, приходящих на разные части дендритного древа постсинаптического нейрона. В данной работе проводится сравнение ВПСП, вызванных стимуляцией пресинаптических входов, экспрессирующих канал GtACR2 и электрической внеклеточной стимуляцией.

Пирамидные нейроны 2/3 слоя неокортекса крыс были трансфицированы плазмидой, несущей ген светоуправляемого хлорного канала GtACR2 методом in utero электропорации. Затем в возрасте 21-30 дней из мозга крыс были приготовлены переживающие срезы. Мы осуществляли внутриклеточную регистрацию активности пирамидных нейронов 5го слоя методом patch-clamp в конфигурации целая клетка, при этом проводили локальную паттернированную световую стимуляцию короткими световыми стимулами области ветвления дендритного дерева постсинаптического нейрона при помощи специализированного фотостимулятора Polygon1000. Вся область стимуляции была разбита на квадраты для нанесения световых стимулов. В качестве контроля были взяты крысы, не показавшие признаков трансфицирования (светимость срезов мозга в диапазоне излучения канала GtACR2), электрическая стимуляция которых проводилась стимулирующей пипеткой.

Сравнение параметров ВПСП в постсинаптическом нейроне, вызванных в результате оптической и электрической стимуляции позволит определить, подходит ли светоуправляемый хлорный канал GtACR2 для стимуляции пресинаптической сети и получения ответов сразу от нескольких входов на один нейрон. В дальнейшем, разрабатываемый метод планируется использовать для изучения особенностей и закономерностей пластичности синаптических входов, приходящих на разном расстоянии от тела постсинаптического нейрона.

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ МЫШЕЙ ЛИНИИ C57BL/KS–DB+/+M С МУТАНТНЫМ РЕЦЕПТОРОМ ЛЕПТИНА

Рубаненко Н.С.[1], Недогреева О.А.[1]

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

E-mail: rubaneuro@gmail.com

Болезнь Альцгеймера является одной из наиболее распространенных форм возрастной деменции. Хорошо известно, что болезнь Альцгеймера часто ассоциирована с сахарным диабетом. Данные работ последних лет указывают на общие звенья этих патологических процессов, например, инсулинорезистентность.

Мыши линии C57BL/Ks–db+/+m представляют собой удобную модель сахарного диабета 2-го типа, для которых характерно развитие инсулинорезистентности. У мышей линии C57BL/Ks–db+/+m наличие мутантного гена $Lepr^{db}$ приводит к сборке дефектного рецептора лептина с последующим отключением внутриклеточных сигнальных каскадов лептина. Фенотипически это проявляется в гиперфагии, наборе массы тела и развитии диабета 2-го типа. Мыши этой линии имеют высокую концентрацию глюкозы в крови при нормальном уровне секреции инсулина, что является проявлением инсулинорезистентности. Мы предположили, что следствием инсулинорезистентности у этих животных может быть активация нейродегенеративных изменений с последующим нарушением когнитивных функций. Целью работы было изучение поведения и морфологических изменений в мозге мышей линии C57BL/Ks–db+/+m в сравнении с мышами C57BL.

В эксперименте использовали самцов мышей C57BL/Ks–db+/+m (n=21) и C57BL (n=18) возрастом 4 месяца. У всех животных была проведена оценка толерантности к глюкозе. Общую активность и тревожность оценивали в тестах «Открытое поле» и «Закапывание шариков», обучение и долговременную память оценивали в лабиринте Барнс и тесте «Распознавание нового объекта».

Было установлено, что мыши C57BL/Ks–db+/+m демонстрировали сильнейшую гипергликемию натощак (29,2 ммоль/л) по сравнению с 8,5 ммоль/л у самцов мышей контрольной линии. Самцы линии C57BL/Ks–db+/+m проходили меньшее расстояние и не совершали вертикальных стоек в тесте «Открытое поле», по-видимому, из-за снижения исследовательской активности и/или бóльшей тревожности. В тесте «Закапывание шариков» наблюдали уменьшение количества закопанных стеклянных шариков, что вкупе с уменьшением числа эпизодов груминга могло свидетельствовать о низкой активности животных в экспериментальных условиях. В лабиринте Барнс мыши C57BL/Ks–db+/+m медленнее находили вход в убежище как в ходе обучения (5 попыток), так и в процессе переучивания, когда убежище размещали в другой части лабиринта (4 попытки). Это может свидетельствовать о нарушении формирования пространственной памяти. Не было обнаружено отличий между группами разных генотипов по индексу предпочтения нового объекта в тесте «Распознавание нового объекта».

Полученные данные могут свидетельствовать о том, что мыши исследованной генетически модифицированной линии C57BL/Ks–db+/+m могут служить удобным объектом для дальнейших исследований функции мозга в условиях инсулинорезистентности.

ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕННОЙ СТРУКТУРЫ ОБУЧЕНИЯ НА ФОРМИРОВАНИЕ И СТАБИЛИЗАЦИЮ КЛЕТОК МЕСТА В НОРМЕ И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА У МЫШЕЙ

Савельев Н.П.[1,2*], Иванова А.А.[2], Ивашкина О.И.[2], Плюснин В.В.[2], Поспелов Н.А.[2], Рогожникова О.С.[2], Торопова К.А.[2], Анохин К.В.[2]

[1] Биологический факультет, МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия
[2] Институт перспективных исследований мозга МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: nksavelev2002@gmail.com

Формирование когнитивных карт, нейронным субстратом которых служат клетки места гиппокампа [1], является ключевым механизмом пространственной навигации и памяти. Активность клеток места возникает уже в первые минуты знакомства со средой, однако долговременная стабильность ансамблей CA1 формируется постепенно и связана с процессами консолидации [2]. При этом временная структура обучения играет важную роль: расставленное (spaced) обучение, при котором эпизоды взаимодействия со средой разделены интервалами, обеспечивает более прочное запоминание, чем равная по длительности непрерывная экспозиция (massed) [3]. У мышей линии 5xFAD, модели болезни Альцгеймера, уже на ранних стадиях отмечаются дефициты гиппокамп-зависимой памяти и нарушения сетевой динамики в CA1 [4]. Это позволяет проверить, как временная структура обучения влияет на стабилизацию когнитивных карт при сниженной пластичности. В данной работе сравнивали влияние разных режимов обследования пространства на динамику ансамблей нейронов CA1 у здоровых и 5xFAD-мышей.

В эксперименте использовали мышей линий 5xFAD и C57BL/6, исследовавших открытое поле в двух режимах: Spaced — пять 2-минутных сессий в течение пяти дней и Single — одно 10-минутное предъявление; после обучения проводили 10-минутный тест. У мышей линии FAD группы Spaced активность клеток гиппокампа, площадь полей места и число полей места на одну клетку были значимо выше, чем у C57, при этом взаимная информация клеток места — ниже как в Spaced-, так и в Single-группе. Анализ на уровне отдельных нейронов подтвердил гиперактивность и снижение информационной специфичности клеток 5xFAD. При этом в группе Spaced взаимная информация у 5xFAD была выше, чем в группе Single. Различий по нейронам, селективным к скорости, направлению головы и другим непространственным актам, не выявлено. Таким образом, у мышей 5xFAD отмечаются гиперактивность нейронов CA1 и снижение точности когнитивных карт, тогда как расставленное обучение частично восстанавливает их пространственную точность.

[1] O'Keefe J., Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map: Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat // Brain Research. 1971. V. 34. P. 171–175.
[2] Sotskov V.P., Pospelov N.A., Plusnin V.V., Anokhin K.V. Calcium Imaging Reveals Fast Tuning Dynamics of Hippocampal Place Cells and CA1 Population Activity during Free Exploration Task in Mice // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23(2). P. 638.
[3] Commins S., Cunningham L., Harvey D., Walsh D. Massed but not spaced training impairs spatial memory // Behavioural Brain Research. 2003. V. 139(1-2). P. 215-223.
[4] Girard SD., Jacquet M., Baranger K., Migliorati M., Escoffier G., Bernard A., Khrestchatisky M., Féron F., Rivera S., Roman FS., Marchetti E. Onset of hippocampus-dependent memory impairments in 5XFAD transgenic mouse model of Alzheimer's disease // Hippocampus. 2014. V. 24(7). P. 762-772.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРИНА В НЕЙРОНАХ И ГЛИИ НА МОДЕЛИ ПЕРВИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

А.А. Самородова[1], П. М. Балабан[1], А.А. Бородинова[1]

[1] Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН
117485 г. Москва, ул. Бутлерова дом 5А,

e-mail: alevtinasamorodova1@gmail.com

Ключевые слова: нейроны, астроциты, холестерин, эпигенетика.

Введение: Согласно литературным данным, уменьшение концентрации холестерина в нейронах коррелирует со снижением синаптогенеза и может быть связано с развитием некоторых нейродегенеративных заболеваний (Korinek M. et al., 2020). Зрелые нейроны не способны самостоятельно синтезировать холестерин в количествах, достаточных для обеспечения собственных нужд, а потому зависят от астроцитов — основных поставщиков холестерина. Регуляция метаболизма холестерина может осуществляться путём изменения экспрессии генов, связанных с его синтезом и транспортом. Исследования показали, что эпигенетическая регуляция экспрессии генов метаболизма холестерина может происходить за счёт перестроек хроматина, вызванных ацетилированием гистонов (Paiva I. et al., 2024). Ещё один механизм регуляции экспрессии генов, ответственных за метаболизм холестерина, — при помощи сигнальных молекул, таких как некодирующие РНК. Эти сигнальные молекулы могут секретироваться глией и транспортироваться к нейронам в составе внеклеточных везикул (Li X. et al., 2021). Цель данного исследования — изучить механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов, кодирующих компоненты метаболизма холестерина, в нейронах и в глиальных клетках, а также в контексте нейроглиальной коммуникации.

Методы: В качестве модели использовали первичные нейрональные и смешанные глиальные культуры клеток, выделенные из мозга новорожденных крысят линии Wistar (P0-P1). Хроматиновые перестройки индуцировали с помощью ингибитора гистондеацетилаз трихостатина А (TSA, 100 нМ). После 19-часовой инкубации с TSA из клеточных культур выделяли тотальную РНК и при помощи количественного ПЦР измеряли уровень экспрессии генов, связанных с метаболизмом холестерина. Дополнительно, с помощью ингибитора РНК-полимеразы III, осуществляли влияние на состав секретируемых глией сигнальных молекул для изучения эпигенетической регуляции генов, связанных с метаболизмом холестерина. Для этого глиальные культуры в течение трех часов инкубировали с ингибитором РНК-полимеразы III (60 мкМ) для подавления синтеза некодирующих РНК, что предположительно приводило к изменению состава секретируемых сигнальных молекул. Затем глиальную среду, содержащую сигнальные молекулы, переносили к нейрональным культурам, инкубировали в течение 16 часов и с помощью количественного ПЦР измеряли уровень экспрессии генов, участвующих в метаболизме холестерина, в нейронах. Также, мы исследовали влияние ингибитора РНК-полимеразы III на уровень экспрессии тех же генов в глиальных клетках после 19 часов инкубации.

Результаты: В первичных культурах кортикальных нейронов TSA подавлял экспрессию целого ряда генов, связанных с метаболизмом холестерина, включая гены, кодирующие ферменты синтеза холестерина (*Hmgcs1, Mvd, Lss*), белок транспортировки в составе липопротеинов низкой плотности *(ApoD*), а также рецепторы липопротеинов низкой плотности (*Vldlr, Ldlr)*. В смешанных глиальных культурах при аналогичных условиях наблюдалось снижение экспрессии только двух генов — *Hmgcs1 и Dhcr7*, кодирующих ферменты начальной и конечной стадий синтеза холестерина. По результатам пилотных экспериментов с использованием цитохимического метода окрашивания уровня свободного холестерина красителем филипин III, обнаруженные нами изменения в экспрессии генов метаболизма холестерина привели к нарушению трафика холестерина и изменению его распределения в клетках.

Блокирование синтеза некодирующих РНК с помощью ингибитора РНК-полимеразы III в глиальных клетках привело к повышению уровня экспрессии гена, кодирующего рецептор липопротеинов очень низкой плотности *Vldlr*. У нейронов, которым переносили среду с сигнальными молекулами глиальных клеток, обработанных ингибитором РНК-полимеразы III, был отмечен аналогичный эффект — увеличение уровня экспрессии *Vldlr*. Дальнейшие исследования будут направлены на определение, обусловлены ли полученные результаты прямым влиянием ингибитора РНК-полимеразы III на экспрессию генов в клетках головного мозга, или же они связаны с изменениями в нейроглиальной коммуникации.

Выводы: Эпигенетическая регуляция экспрессии генов, кодирующих компоненты метаболизма холестерина, в нейронах и глиальных клетках осуществляется по-разному и может приводить к перераспределению холестерина в клетках мозга. Воздействие ингибитора РНК-полимеразы III на клетки мозга вызывает изменения в уровне экспрессии генов, кодирующих рецепторы липопротеинов низкой плотности, что может отразиться на процессах липидного обмена. Изучение процессов, лежащих в основе межклеточного взаимодействия и регуляции экспрессии генов метаболизма, может способствовать более глубокому пониманию функционирования клеток мозга и выявлению причин возникновения нейродегенеративных заболеваний.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-15-00149.

Список литературы:

1. Dysregulated expression of cholesterol biosynthetic genes in Alzheimer’s disease alters epigenomic signatures of hippocampal neurons / I. Paiva, J. Seguin, I. Grgurina et al. // Neurobiology of Disease. – 2024. – Vol. 198. – P. 106538.

2. Cholesterol modulates presynaptic and postsynaptic properties of excitatory synaptic transmission / M. Korinek, I. M. Gonzalez-Gonzalez, T. Smejkalova et al. // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 12651.

3. Astrocytic ApoE reprograms neuronal cholesterol metabolism and histone-acetylation-mediated memory / X. Li, J. Zhang, D. Li et al. // Neuron. – 2021. – Vol. 109. – № 6. – P. 957-970.e8.

УМЕНЬШЕНИЕ ЗАДЕРЖКИ ВЫЗВАННОГО ПОТЕНЦИАЛА НА ВЫКЛЮЧЕНИЕ ВТОРОГО СТИМУЛА В ЗАДАЧЕ ПОПАРНОГО СРАВНЕНИЯ ДЛИТЕЛЬНОСТИ

Сафронов П.А.[1], Сысоева О.В.[1]

1 Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

E-mail: p.a.safronov@ihna.ru

Временная предсказуемость является фундаментальным механизмом оптимизации сенсорной обработки в мозге. В то время как ее влияние на задержки компонентов вызванных потенциалов (ВП) на появление стимулов хорошо изучены, эффекты в отношении исчезновения стимула остаются неизвестными. В связи с этим целью данной работы было выяснить, модулирует ли временная предсказуемость задержки компонентов ВП на выключение стимулов.

В исследовании приняли участие 126 добровольцев (59 мужчин и 67 женщин; 26,13 ± 9,6 лет). Испытуемые выполняли задачу парного сравнения длительности двух последовательно предъявляемых визуальных стимулов в виде белых звезды на черном фоне, разделенных фиксированным интервалом 0,9 с. Общая длительность пары составляла 9,6 с, а индивидуальные длительности варьировались: (3,2 с; 6,4 с), (3,6 с; 6,0 с), (4,0 с; 5,6 с), (4,4 с; 5,2 с), (4,8 с; 4,8 с), (5,2 с; 4,4 с), (5,6 с; 4,0 с), (6,0 с; 3,6 с), (6,4 с; 3,2 с). Регистрация ЭЭГ проводилась с использованием 64-канальной системы (Brain Products GmbH, actiCHamp) по схеме 10–10 с референтом на FCz и заземлением на FPz. Частота дискретизации составляла 500 Гц. Предобработка данных выполнялась в MNE Python путем FIR–фильтрации (0,01–30 Гц), интерполяции артефактных каналов, удаления глазных артефактов (FastICA и ALICE). Для анализа ВП выделялись эпохи от –200 до +700 мс относительно момента выключения стимула. Топографический анализ усредненных ВП выявил канал с максимальной отрицательной активностью для N100 в интервале 80–250 мс — P6, а также канал с максимальной положительной активностью для P200 в интервале 200–400 мс — FC1. Для оценки латерализации использовались симметричные каналы P5 и FC2 соответственно.

Двухфакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями выявил для латентности N100 значимый эффект полушария ($F(1,121)=16.93$, $p<0.01$) и взаимодействия факторов порядка стимула и полушария ($F(1,121)=6.67$, $p=0.01$). Post-hoc тесты показали, что латентность второго стимула была меньше только в правом полушарии ($t=3.377$, $p<0.01$). Для P200 был значим только основной эффект порядка стимулов ($F(1,120)=16.545$, $p<0.01$). Post-hoc тест подтвердил, что латентность была достоверно меньше для второго стимула ($p<0.01$).

Данные результаты расширяют представления о роли временной предсказуемости в кодировании сенсерной информации. Было продемонстрировано, что временная предсказуемость способна модулировать задержки ВП на выключение стимулов. Сокращение задержек компонентов ВП на выключение стимулов, следующих вторыми в паре, указывает на возможное существование механизмов ожидания и расчета предсказуемости завершения событий. Факт того, что эффект для N100 латерализован в правой теменной коре (P6), тогда как для P200 он билатерален (FC1, FC2), указывает на различную специализацию полушарий в ранней и более поздней обработке сенсорной информации в рамках предиктивного кодирования.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИВНД и НФ РАН Министерства образования и науки Российской Федерации на 2023-2025 годы.

ИНТЕГРАЦИЯ ЭЭГ И БИОМЕХАНИЧЕСКИХ ДАННЫХ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ НЕЙРОДИНАМИКИ ПОСТУРАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ В СТАТИЧЕСКИХ И ДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ: ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Скурятин П.Н[1*], Карчевский С.Ф.[1], Федоров Г.А.[1], Нестеров И.Д.[1], Окнина Л.Б.[2], Стрельникова Е.В.[2], Слезкин А.А.[2], Кириченко А.В.[1]

1 МИРЭА - Российский технологический университет, Москва
2 ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

e-mail: SPN.BioSym@yandex.ru

Ключевые слова: постуральный контроль, ЭЭГ, стабилометрия, акселерометрия.

Постуральный контроль — способность поддерживать устойчивую позу и баланс тела — является фундаментальной способностью для повседневной деятельности и двигательной активности человека. Постуральный контроль обеспечивается интеграцией сенсорной информации (вестибулярной, зрительной, проприоцептивной) и ее точной обработкой центральной нервной системой (ЦНС) с последующей адекватной моторной коррекцией. Несмотря на длительную историю изучения, нейрофизиологические механизмы, лежащие в основе постурального контроля, остаются не до конца раскрытыми. Традиционно постуральный контроль исследуется раздельно в статических (с помощью стабилометрии) или динамических (с использованием акселерометрии) условиях. Однако в реальной жизни человек постоянно переключается между этими состояниями, оценить сохранность которых можно с помощью интегративного подхода, позволяющего получить целостную картину работы системы «мозг-тело».

Настоящее исследование направлено на изучение нейрофизиологических механизмов постурального контроля и выявление возможных функциональных связей между показателями статической (стабилометрия + ЭЭГ) и динамической (акселерометрия + ЭЭГ) координации в мультисенсорной среде у взрослых людей. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи: провести анализ ЭЭГ, стабилометрических и акселерометрических данных для количественной оценки характеристик постурального контроля; провести корреляционный анализ для установления функциональных взаимосвязей между параметрами ЭЭГ и биомеханическими показателями (стабилометрии и акселерометрии); сравнить выявленные нейробиомеханические паттерны между условиями статического и динамического контроля, а также между различными сенсорными условиями.

При тестировании протокола и оптимизации батареи тестов были зарегистрированы и проанализированы данные 10 здоровых испытуемых-добровольцев в возрасте от 18 до 25 лет.

На основе анализа данных сформирован протокол исследования. Протокол включает: 1. Стабилометрическое исследование с использованием акселерометров при выполнении пробы «Мишень» (пробы со зрительной обратной связью), к которой последовательно добавляются нагрузки на правое (прослушивание слуховых стимулов) и левое (решение арифметических и логических задач) полушария; 2. Динамическое исследование с использованием акселерометров при прослушивании различных слуховых стимулов: 2.1. на беговой дорожке, 2.2. в помещении, 2.3. в открытой городской среде. На каждом этапе исследования мы проводим синхронную регистрацию ЭЭГ (стационарная или мобильная системы регистрации).

Мы предполагаем, что применение протокола и набор статистически валидных групп исследования позволят выявить функциональные сети мозга, обеспечивающие постуральный контроль, а также раскрыть маркеры постурального контроля, на основе которых в дальнейшем можно будет

разрабатывать персонифицированные программы мониторинга эффективности реабилитационных программ и тренировочных процессов.

СВЯЗЬ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЧАСТОТНО-АМПЛИТУДНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК АЛЬФА-РИТМА С ВОСПРИЯТИЕМ ВРЕМЕНИ В ДИАПАЗОНЕ МИНУТ

Словенко Е.Д.[1], Сысоева О.В.[1]

1 Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва

E-mail: ekaterinaslovenko@gmail.com

Введение. Есть свидетельства о связи индивидуальной частоты альфа-ритма (iAPF) с восприятием скорости течения времени (Mioni et al., 2020), точностью оценки временных интервалов (Frisoni et al., 2025) и вариабельностью временных оценок (Morrow et al., 2024, Mokhtarinejad et al., 2024). Также есть данные, подтверждающие связь мощности альфа-ритма с восприятием времени (Wiener and Kanai, 2016, Mokhtarinejad et al., 2024). Однако, существующие исследования охватывают только диапазоны миллисекунд и секунд и остается неизвестным, является ли связь альфа-ритма и восприятия времени универсальной или специфичной для коротких длительностей.

Методы. Для уточнения взаимосвязи между восприятием времени частотными и амплитудными параметрами альфа-ритма был проведен корреляционный анализ iAPF и мощности затылочного альфа-ритма во время отмеривания минуты с длительностью субъективной минуты, величиной отклонения субъективной минуты от объективной (N = 187); с точкой субъективного равенства (PSE) и вариабельностью оценок (slope) в задаче сравнения зрительных стимулов супрасекундном диапазоне (N = 176); с темпом и вариабельностью отсчета 1-секундных интервалов в моторной задаче (N = 73). Для вычисления iAPF были использованы 30-секундные фрагменты ЭЭГ во время задания отмеривания минуты с открытыми и закрытыми глазами. iAPF и мощность альфа-ритма определялись по сигналу отведений Pz, P3, P4, POz, PO3, PO4 в диапазоне 8-13 Гц. Для оценки связи между показателями был использован коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты. Не выявлено значимых корреляций между показателями iAPF и длительностью субъективной минуты, точностью оценки минуты, с показателями PSE и slope, с темпом и вариабельностью воспроизведения секундного интервала в моторной задаче. Уровня статистической значимости достигла только слабая корреляция между мощностью альфа-ритма и отклонением субъективной минуты от объективной (N = 187, R(S) = -0.155, p = 0.037).

Выводы. Полученные результаты не подтверждают теории, согласно которым частота альфа-ритма определяет частоту дискретизации длительности событий или является универсальным диапазоном синхронизации системы оценки времени. Наличие обратной зависимости между мощностью альфа-ритма и величиной расхождения субъективной и объективной длительности минуты согласуется с результатами Mokhtarinejad и коллег, что косвенно свидетельствует о схожей роли альфа-ритма в восприятии диапазонов секунд и минут.

КОРТИКАЛЬНАЯ РАСПРОСТРАНЯЮЩАЯСЯ ДЕПРЕССИЯ: МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ВЫЗОВЫ И ПУТИ ИХ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Смирнов И.А.[1], Обласов И.А.[2], Никитин Е.С.[3]

[1]Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
[2,3]Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН

E–mail: IvanAlexandrovichSmirnov@gmail.com

Кортикальная распространяющаяся деполяризация (РД) представляет собой волну массовой деполяризации нейронов и глиальных клеток, сопровождающуюся подавлением электрической активности, резкими сдвигами ионных градиентов, высвобождением нейромедиаторов и изменениями локального кровотока [1]. Впервые описанная в 1944 году, РД считается ключевым механизмом возникновения мигрени с аурой, а также фактором, усугубляющим повреждения нервной системы при ишемическом инсульте, черепно-мозговых травмах и судорожных состояниях [2]. Несмотря на значительный научный интерес, механизмы инициации, распространения и регуляции РД остаются до конца не изученными, что приводит к необходимости разработки и совершенствования экспериментальных моделей. Понимание механизмов возникновения и распространения РД открывает перспективы для разработки терапевтических стратегий, направленных на подавление патологической деполяризации или смягчение ее последствий. Например, блокаторы ионных каналов или антагонисты глутаматных рецепторов рассматриваются как потенциальные нейропротекторы.

Исследование РД сопряжено с фундаментальными методологическими трудностями, связанными с воспроизведением и контролем данного феномена в лабораторных условиях. Для повышения уровня контроля над внеклеточной средой для исследований использовались срезы головного мозга взрослых мышей, что позволило сделать воздействие более точечным и добиться визуализации процессов на клеточном уровне. Так, в экспериментах проводилась синхронизированная во времени запись локального потенциала группы нейронов и запись оптического сигнала в режиме дифференционно-интерференционного контраста в проходящем свете. Инициация волны происходила при помощи локального введения раствора ацетата калия через микропипетку непосредственно в срез. Описанные выше модели дают уникальную возможность изучать клеточные и молекулярные взаимодействия без влияния системных факторов (например, иммунного ответа или гормональных колебаний), что критически важно для выявления ключевых мишеней терапии.

На данный момент ключевой проблемой исследований является отсутствие стандартизированных протоколов, что приводит к значительной вариабельности данных между различными лабораториями. На параметры РД критически влияют такие факторы, как толщина среза мозга, состав и температура перфузионного раствора, а также возраст и линия подопытных животных. Отдельный интерес представляет сложность и многогранность самого феномена - считается, что волна РД распространяется совместно с волной осмотического сжатия тканей и дифузионной волной множества различных ионов и нейромедиаторов, что затрудняет описание непосредственно распространяющейся деполяризации [2].

Литература

1. Aiba I. Sustained NMDA receptor activation by spreading depolarizations can initiate excitotoxic injury in metabolically compromised neurons // The Journal of Physiology, 2012
2. Isra T., David Y.C., Frieder S., Matthias E., Andreia L.M., Steven J.S., Inge C.M., Tao Q. Spreading depression as an innate antiseizure mechanism // Nature communications, 2021

ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГИППОКАМПА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СОСУДОВ КОРЫ МОЗГА МЫШИ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Солдатова А.Е.[1,2], Морозова К.И.[2], Тяглик А.Б.[1,2], Федотова А.А.[1,2], Олейников В.А.[2], Браже А.Р.[1,2], Браже Н.А*.[1,2]

1 Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, 119234, ул. Колмогорова, 1 строение 12, Москва,
2 Государственный Научный Центр Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Россия, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.

E-mail: nastya.soldatova177@mail.ru

Отсутствие комплексного подхода к оценке взаимодействия разных типов клеток в мозге серьезно ограничивает понимание того, как реализуются его основные функции. Чтобы решить эту проблему, мы используем концепцию нейро-глио-васкулярных единиц (НГВЕ), которая позволяет рассматривать взаимодействие между такими элементами мозговой ткани как нейроны, астроциты и сосудистая сеть мозга.

Ритмическая электрическая активность мозга необходима для обработки информации в нейрональных сетях. Тета-ритм гиппокампа является неотъемлемой частью когнитивных процессов, внимания и формирования памяти. Мы предполагаем участие сосудистой сети в модуляции ритмической активности гиппокампа, нарушающейся при нейропатологиях.

Исследование проводили на животных с моделью болезни Альцгеймера (БА) (линия 5xFAD) на досимтоматической и симптоматической стадиях. Электрическую активность нейронов зоны CA1 гиппокампа у свободно-подвижных животных регистрировали с помощью телеметрической установки. Для оценки диаметра сосудов и степени оксигенации крови в артериолах и венулах коры мозга животных in vivo использовали микроспектроскопию комбинационного рассеяния (КР) с лазерным возбуждением 532 нм.

Мы выявили ряд статистически значимых различий в электрофизиологических данных, полученных в экспериментах на свободноподвижных животных 5xFAD на разных стадиях заболевания. Также были обнаружены значимые изменения уровня базовой оксигенации крови в артериолах и венулах у мышей линии 5xFAD на досимптоматической стадии. При анализе ответа кровеносных сосудов на локомоцию был выявлен ряд различий между досимптоматической и симптоматической стадией БА.

Совокупность полученных данных указывает на то, что при развитии БА и во время симтоматической стадии нарушаются функционирование клеток мозга и регуляция локального кислородоснабжения тканей мозга, что в свою очередь может быть причиной наблюдающихся изменений в ритмической активности мозга и поведении животных.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант 23-44-00015).

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ ГЕМОДИНАМИКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ПРОБУЖДЕНИИ И РЕШЕНИИ МОТОРНЫХ И КОГНИТИВНЫХ ЗАДАЧ С ПОМОЩЬЮ БИКС

Соловьева А.К., Бобров П.Д., Исаев М.Р., Украинцева Ю.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва

email: v.tirka.99@gmail.com

Ключевые слова: сон, пробуждение, моторная задача, арифметическая задача, БИКС.

Несмотря на то, что процесс засыпания в настоящее время хорошо исследован, пробуждение до сих пор остается недостаточно изученным. Наиболее неинвазивным и мобильным методом для исследования изменения концентрации окси- (HbO) и дезоксигемоглобина (HbR) в коре головного мозга в настоящее время является спектроскопия в ближней инфракрасной области (БИКС) (Pinti et al., 2020). В виду относительной новизны метода, существуют лишь единичные работы, проведенные на спящих добровольцах (Näsi et al., 2011; Oniz et al., 2019), и регионарные особенности восстановления гемодинамики при форсированном пробуждении до сих пор не изучались. Недостаточно изучен также вклад в изменения концентрации HbO и HbR таких факторов, как всплеск симпатической активности, связанной со сменой уровня бодрствования (Özbay et al., 2019), и активации нейронных популяций, вызванные деятельностью, выполняемой при пробуждении.

Мы поставили своей целью описать изменения в гемодинамике головного мозга при форсированного пробуждении из 3-й стадии дневного сна, при переходе от неполного бодрствования к полному и при выполнении разных типов задач.

Была отработана методика одновременной регистрации ЭЭГ и БИКС в бодрствовании при решении задач и во время дневного сна. Была поставлена серия экспериментов, в которых 13 здоровым добровольцам в бодрствовании предлагали для решения три типа задач: простую моторную, сложную моторную и арифметическую. В момент форсированного пробуждения ото сна им предлагали простую моторную задачу. БИКС-сигнал регистрировали с 27 каналов с частотой дискретизации 8,93 Гц. Из общей записи БИКС выделяли моменты начала решения каждой из задач в бодрствовании, форсированного пробуждения ото сна и перехода между неполным (когда выполнение задачи было еще затруднено) и полным (когда восстанавливалась способность верно выполнять задачу) бодрствованием. Для простой моторной задачи усредняли БИКС-сигнал вокруг метки начала каждой пробы. Концентрации HbO рассчитывали с помощью модифицированного закона Бугера–Ламберта–Бера, и проводили статистический анализ.

Мы получили, что в момент форсированного пробуждении ото сна и в момент перехода от неполного бодрствования к полному концентрация HbO в среднем значимо возрастает ($p<0,05$ для обоих случаев). Однако при оценке региональных различий, мы получили достоверное повышение HbO при пробуждении ото сна только для фронтальных каналов БИКС ($p<0,05$). Для перехода между неполным и полным бодрствованием повышение HbO было значимым для только центральных ($p<0,05$) и теменных ($p<0,05$) каналов. Значимых различий в БИКС-сигнале на начало каждого из трех типов задач мы не обнаружили в силу высокой индивидуальной вариабельности. При выполнении добровольцами простой моторной задачи мы получили повышение концентрации HbO после метки начала пробы только на центральных отведениях БИКС, в частности в проекциях правой руки.
Наши предварительные результаты указывают на региональные различия в гемодинамике головного мозга при выполнении задач и при изменении уровня бодрствования, а также наглядно демонстрируют неодновременность перехода от сна к бодрствованию.

СРАВНЕНИЕ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТКАХ ДОРСАЛЬНОГО И ВЕНТРАЛЬНОГО ГИППОКАМПА МЫШЕЙ ЛИНИИ 5XFAD в УСЛОВИЯХ КОНТЕКСТНОГО ОБУЧЕНИЯ

Фортыгина П.А.[1], Бородинова А.А.[1]

[1] *Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

e-mail: fortyginapolina@mail.ru

Ключевые слова: нейроны, гиппокамп, обучение, Болезнь Альцгеймера.

Гиппокамп – одна из основных структур головного мозга, в котором значительно выражены процессы нейродегенерации при Болезни Альцгеймера (БА). Одна из распространенных животных моделей для исследования наследственной формы БА – трансгенная линия мышей B6CJL-Tg (5xFAD; Stock# 034840; The Jackson Lab; USA), которая включает пять мутаций, ассоциированных с семейной формой БА. Эти мутации вызывают раннюю аккумуляцию амилоидных бляшек в гиппокампе и коре (Oakley et al. 2006; Pádua et al. 2024; Tsui et al. 2022; Rao et al. 2022).

Цель работы: исследование изменений экспрессии генов в областях дорсального и вентрального гиппокампа в норме и в мышиной модели болезни Альцгеймера (5xFAD) через 24 часа после гиппокамп-зависимого обучения. В работе использовали здоровых 8-месячных самцов мышей дикого типа (линия B6SJL) и трансгенных животных (линия B6SJL-Tg (5xFAD)), являющихся моделью БА. В тесте условно-рефлекторного замирания показано нарушение контекст-обусловленной памяти у 5xFAD мышей при сравнении со здоровыми животными в возрасте 8 месяцев: время замирания больных животных при повторном предъявлении контекста обучения было значительно снижено по сравнению со здоровым контролем ($p \leq 0.01$; $n \geq 5$) через 24 часа с момента обучения (однократный удар током 0,35мА). Далее методом single-nucleus RNA-seq исследовали изменение экспрессии генов в дорсальном и вентральном отделах гиппокампа самцов через 24 часа после гиппокамп-зависимого обучения в трёх экспериментальных группах: интактный контроль, активный контроль (без стимуляции током) и обученные животные ($n \geq 3$ в группе). Анализ изменений в составе популяцийх клеток между больными и здоровыми животными вне зависимости от группы обучения и исследуемой зоны показал, что у 5xFAD животных значимо увеличивается количество ядер клеток микроглии ($p<0,001$) и снижается количество ядер астроцитов ($p<0,01$). При этом между группами сравнения по фактору обучения разницы в представленности клеточных популяций не наблюдали ни для дорсального, ни для вентрального гиппокампа. Наиболее выраженные изменения профилей экспрессии наблюдались в популяции астроцитов вентрального гиппокампа при сравнении обученных животных с группой активного контроля. Для обученных 5xFAD животных выявлено снижение экспрессии 10 генов, в то время как для обученных WT животных показан рост экспрессии 56 генов, включая *Ttr, Enpp2, Otx2* ($p.adj<0.05$). В других клеточных типах вентрального гиппокампа значимые изменения наблюдали для единичных генов. При аналогичном сравнении обученных животных с группой активного контроля для дорсального гиппокампа было показано разнонаправленное изменение гена *Ttr*, ассоциированного с БА, с увеличением уровня экспрессии в группе обученных 5xFAD самцов, что может быть связано с компенсаторными механизмами (Batista A. R. et al., 2020). Таким образом, через 24 часа после гиппокамп-зависимого обучения основные изменения транскрипции генов наблюдаются в популяции астроцитов вентрального гиппокампа, что может указывать на их ключевую роль в раннем когнитивном дефиците при БА.

ТРАНСЛЯЦИОННЫЙ ПОДХОД К РАЗРАБОТКЕ БАТАРЕИ КОГНИТИВНЫХ ТЕСТОВ ДЛЯ КРЫС

Чемакин М.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российская академия наук, Москва

e-mail: rainonetu@gmail.com

Ключевые слова: когнитивные способности, трансляционная нейробиология, сравнительная психофизиология, невербальное тестирование.

Батареи когнитивных тестов представляют систематизированный инструментарий для оценки множественных когнитивных доменов: пространственного познания, постоянства объекта, причинно-следственных связей, количественного анализа и социального познания. Трансляционный подход предполагает использование сопоставимых методик у разных видов для выявления общих нейробиологических механизмов когнитивных функций.

Ранее нами была адаптирована Corvid Cognition Test Battery (CCTB) для применения на людях (Human Cognition Test Battery). Первое исследование на врановых птицах (n=8) и детях различных возрастных групп (6, 14-15 лет, n=30) выявило, что вороны сопоставимы с шестилетними детьми по основным когнитивным доменам, что свидетельствует о высоком уровне когнитивного развития врановых на довербальной стадии.

Второе исследование было направлено на выявление роли вербального опосредования в когнитивном тестировании. Взрослые испытуемые (18-19 лет, n=36) выполняли батарею HCTB в двух режимах: с вербальными инструкциями и без них. При невербальном режиме наблюдалось увеличение времени выполнения в 2-5 раз при частичной сохранении итоговой успешности, что демонстрирует критическую роль языкового опосредования в оптимизации когнитивных процессов.

Планируемая батарея тестов для крыс включает адаптированные задачи из CCTB/HCTB: пространственную память (запоминание локализации объектов), постоянство объекта (отслеживание скрытых перемещений), количественный анализ (сравнение множеств), причинно-следственные связи (звук-объект, форма-содержимое) и протоорудийные задачи. Дополнительно вводятся два новых компонента. Первый – тест телесного самосознания с искусственным хвостом (аналог иллюзии резиновой руки), оценивающий интеграцию проприоцептивной и визуальной информации в формировании схемы тела. Второй – задача на мониторинг уверенности в перцептивных решениях: после дискриминации стимулов различной сложности животное может выбрать опцию отказа от ответа, что отражает способность к оценке надежности собственных сенсорных репрезентаций.

Создание аналогичной батареи для крыс имеет критическое значение для нейробиологии, поскольку грызуны остаются основной экспериментальной моделью, доступной для инвазивных методов исследования нейронных механизмов. Стандартизированная оценка когнитивных доменов на крысах позволит: (1) проводить прямые межвидовые сравнения с использованием идентичной методологии; (2) моделировать когнитивные нарушения при нейродегенеративных заболеваниях с возможностью трансляции результатов на человека. Введение тестов на телесное самосознание и мониторинг уверенности расширяет репертуар оцениваемых функций, включая процессы, традиционно считавшиеся недоступными для грызунов, что открывает новые возможности для изучения эволюционно консервативных механизмов сложных форм познания.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ ГИППОКАМПА У МЫШЕЙ

Чернизова А.В.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

e-mail: alisach64@gmail.com

Ключевые слова: старение; гиппокамп; зубчатая извилина; функциональные сети; кальциевая визуализация.

Старение сопровождается снижением когнитивных функций, особенно пространственной памяти, что связано с изменениями в работе гиппокампа. Зубчатая извилина (DG) играет ключевую роль в обработке пространственной информации и считается одной из наиболее уязвимых к возрастным изменениям структур. Однако влияние старения на функциональную организацию нейронных ансамблей DG до настоящего времени оставалось недостаточно изученным.

В данной работе для отработки и верификации методов обработки, которые в дальнейшем будут применены к нашим собственным данным, были проанализированы открытые данные *in vivo* двухфотонной кальциевой визуализации. Исследовались молодые (3–4 мес.) и старые (21–26 мес.) мыши линии C57Bl/6 в условиях многодневного обучения на беговой дорожке с тактильными стимулами. Функциональные сети строились на основе значимых корреляций кальциевой активности отдельных нейронов. Для их характеристики использовали сетевые метрики: плотность связей, среднюю степень, коэффициент кластеризации и модулярность. Статистическая обработка включала многоуровневый bootstrap и t-тесты.

Анализ показал, что у старых животных наблюдается снижение плотности связей (–35,8%, $p<0.001$) и кластеризации (–36,6%, $p<0.001$) по сравнению с молодыми. Наиболее выраженные различия отмечены в модулярности, которая возрастала на 121% ($p<0.01$), указывая на переход к более модульной организации сети. Динамический анализ показал, что различия становились более выраженными на 3-й день обучения: модулярность у старых мышей была выше на 204% ($p=0.006$), а кластеризация ниже на 60% ($p=0.021$) по сравнению с молодыми; на 4-й день различия в модулярности сохранялись ($p=0.025$).

Таким образом, старение сопровождается существенной перестройкой функциональной организации сетей DG. Повышение модульности при снижении плотности связей может отражать как компенсаторные механизмы, так и проявления возрастной деградации сетевой архитектуры. Выявленные изменения потенциально связаны с нарушениями пространственной памяти у старых животных. Апробированная на открытых данных методика анализа функциональных сетей будет применена для исследования изменений в нейронных ансамблях CA1 гиппокампа при обучении и нарушении реконсолидации.