

Предварительный сборник тезисов

XXIV НАУЧНОЙ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ МОЛОДЫХ  
УЧЕНЫХ ПО ФИЗИОЛОГИИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ  
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ

## ВЛИЯНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ СРЕДЫ И СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ НА ПОСЛЕДСТВИЯ РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

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

*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*email:*

Стресс, пережитый в раннем возрасте, создает предрасположенность к развитию у человека ряда соматических и психоневрологических заболеваний. Одной из широко используемых моделей стресса в раннем возрасте является провоспалительный стресс. Было показано, что провоспалительный стресс приводит к усилению тревожности и депрессивно-подобного поведения у взрослых животных, а также влияет на результат выработки и угашения условно-рефлекторного страха. Возникает вопрос, можно ли повлиять на последствия провоспалительного стресса с помощью внешних воздействий. Известно, что хронический стресс социальной изоляции и обогащение среды влияют разнонаправлено на уровень тревожности и проявления депрессивно-подобного поведения. В задачи работы входило изучение влияния обогащения среды и социальной изоляции на тревожное поведение, а также выработку и угашение условно-рефлекторного страха у взрослых крыс, перенесших ранний провоспалительный стресс.

Провоспалительный стресс создавали путем подкожного введения бактериального липополисахарида (группа ЛПС) крысам на 3 и 5 дни жизни (50 мкг/кг), контрольной группе в этом возрасте вводили физиологический раствор (группа ФИЗ). В возрасте 1.5-4 мес каждую группу делили на 3 подгруппы: одна содержалась в стандартных условиях (СТАНД), другая помещалась в обогащенную среду на 20 мин через день (ОС), третья подвергалась социальной изоляции (СИ). У взрослых животных (с 3 до 4 мес) проводили тесты на тревожность (открытое поле, ОП, и приподнятый крестообразный лабиринт, ПКЛ) и анализировали процесс выработки и угашения классического оборонительного условного рефлекса на звук.

Социальная изоляция у самок и самцов группы ФИЗ и ЛПС вызывала увеличение тревожности, судя по увеличению времени нахождения на периферии ОП и уменьшению времени выхода в открытые рукава ПКЛ (Рис.1. А и Г). У самцов и самок группы ЛПС в ОП эффект социальной изоляции проявлялся в большей степени, чем в группе ФИЗ. После социальной изоляции увеличивался латентный период ухода из центра ОП, увеличивалось число вытягиваний в ОП и ПКЛ (оценка риска) (Рис.1. Б и Д). Обогащение среды не вызывало изменений уровня тревожности у крыс ФИЗ группы, но могло приводить к увеличению двигательной (у самцов) и исследовательской активности (у самок), поведения по оценке риска (свешивания) (Рис.1. В и Е). У группы ЛПС обогащение среды вызывало

меньшие изменения в поведении, а у самок ЛПС группы наблюдалась неадекватная реакция, свидетельствующая об увеличении тревожности в ОП.

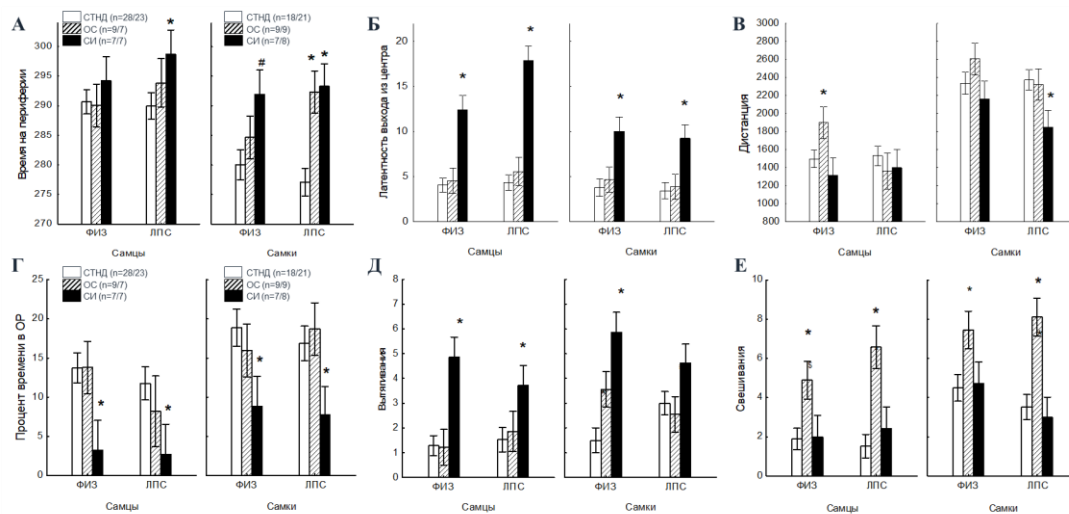


Рис.1. Влияние условий содержания (обогащения среды или социальной изоляции) на поведение взрослых крыс, самок и самцов, в тесте ОП (А-В) и ПКЛ (Г-Е). Легенда: СТНД – группа СТАНД; ОС – группа ОС; СИ – СИ; ФИЗ – группа ФИЗ, ЛПС – группа ЛПС; ОР – открытые рукава. \* - достоверные различия по сравнению с группой СТАНД (factorial ANOVA,  $p < 0.05$ ); # - тенденция ( $0.1 > p \geq 0.05$ ). n – число крыс в группе.

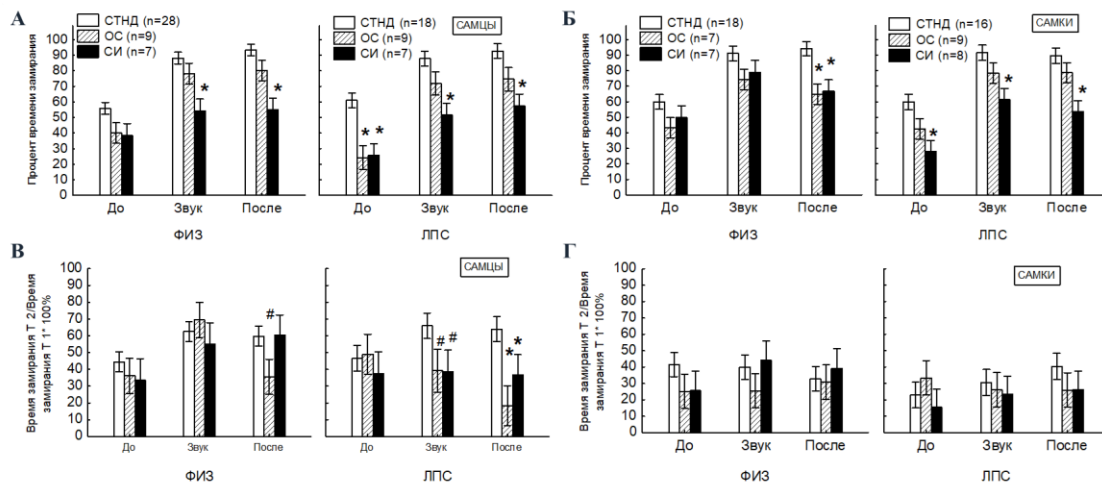


Рис.2. Влияние условий содержания (обогащения среды или социальной изоляции) на результат выработки (Т1 - Тест1, А и Б) и угашения (Т2/Т1 - Тест2/Тест1, В и Г) классического оборонительного рефлекса у взрослых самцов и самок. Обозначения те же, что и на Рис.1.

У крыс после социальной изоляции по сравнению с животными в стандартных условиях содержания тестирование условнорефлекторного страха через 24 час после обучения выявило меньшее время замирания, причем у ЛПС групп по сравнению с ФИЗ группами наблюдались большие изменения, которые возникали в ответ на контекст и звук (Рис.2. А и Б). После обогащения среды наблюдалось небольшое снижение уровня замирания только на контекст. Угашение страха на контекст и звук проходило быстрее у

самцов ЛПС группы после изоляции и обогащения среды по сравнению с животными с нормальными условиями содержания (Рис.2. В и Г).

Таким образом, социальная изоляция крыс в подростковом и взрослом возрасте оказывают существенное влияние на уровень тревожности взрослых крыс, способность к выработке условнорефлекторного страха на контекст и звук и его угашение. Крысы после раннего провоспалительного стресса оказались более подвержены влиянию социальной изоляции. Обогащенная среда не изменяла уровень тревожности, за исключением самок после провоспалительного стресса, которые показали неадекватную реакцию в виде увеличения тревожности.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 19-015-00129А и № 19-34-90022)

## ДИНАМИКА НЕЙРОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОДКОРКОВЫХ СТРУКТУР МОЗГА ПРИ НАБЛЮДЕНИИ И ВЫПОЛНЕНИИ МОТОРНЫХ ЗАДАЧ У ПАЦИЕНТОВ С ЭПИЛЕПСИЕЙ

*Буркитбаев С.Е., Каримова Е.Д.*

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН  
e-mail: wannx@mail.ru*

В настоящее время под зеркальной системой мозга (ЗСМ) понимают функциональную систему нейронов, которая вовлечена в обеспечение таких важных процессов, как подражание, научение через подражание, понимание намерений и эмоций других людей, формирование социальной коммуникации. Наличие нейронов с зеркальными свойствами в головном мозге человека впервые было показано в работе Роя Мукамеля в 2010 году [1] на пациентах с фармакорезистентной эпилепсией. Подобные работы являются уникальными и крайне ценными. Тем не менее, эпилепсия - это неврологическая патология головного мозга, наличие которой может влиять на работу отдельных функциональных систем. В нашей работе выявлены особенности активации ЗСМ у пациентов с эпилепсией по сравнению со здоровыми добровольцами, а также исследованы изменения LFP сигнала в контексте работы ЗСМ.

*Гипотеза исследования:* Активность ЗСМ у пациентов с эпилепсией может быть нарушена по сравнению со здоровыми людьми. Подкорковые структуры содержат пулы нейронов с зеркальными свойствами.

*Цель исследования:* Определить особенности активации ЗСМ у пациентов с фокальной эпилепсией при помощи регистрации ЭЭГ и LFP.

*Методика исследования:* В исследовании принимали участие три группы испытуемых: контрольная группа (33 чел.: 9 м., 24 ж.; ср.воз. 25), группа пациентов с эпилепсией (47 чел.: 18 м., 29 ж.; ср.воз.34 года) и группа пациентов с эпилепсией, проходящих предоперационное обследование с помощью инвазивных электродов (11 чел.: 10 м., 1 ж.; ср.воз. 29 лет).

Была разработана методика, активирующая работу ЗСМ: наблюдение и выполнение моторных заданий (простое нецеленаправленное (сжатие руки), целенаправленное моторное движение (захват чашки), движение, которое задействует обе руки (хлопки)).

Для мониторинга эпилептиформной активности использовались электроды AD-TECH® с платиновыми контактами с диаметром 1.12 мм, частота дискретизации инвазивных записей 2048-4096 Гц. Для записей ЭЭГ по каждому заданию и фоновой пробе были получены спектры мощности в полосах частот 4-6 Гц (тета 1-ритм), 6-8 Гц (тета 2-ритм), 8-10,5 Гц (альфа 1-ритм), 10,5-13 Гц (альфа 2-ритм), 13-24 Гц (бета 1-ритм), 24-35 Гц (бета 2-ритм). Для записей LFP по каждому заданию были получены спектры мощности в полосах частот 4-8 Гц (тета-ритм), 8-13 Гц (альфа-ритм), 13-35 Гц (бета-ритм), 35-300 Гц (гамма-ритм). Для статистической обработки данных использовалась программа STATISTICA.

*Результаты и обсуждение:* Дисперсионный анализ ANOVA не выявил значимых различий между общей группой пациентов и контрольной группой, однако были обнаружены достоверные влияния факторов диагноза, длительности заболевания, частоты приступов, наличия в анамнезе оперативного удаления очага. Диагнозы: десинхронизация мю-ритма в альфа-1 и альфа-2 диапазонах частот была достоверно выше контрольной группы при диагнозе фокальная симптоматическая эпилепсия и эпилептические синдромы с простыми парциальными припадками (G 40.1). Воздействие длительности заболевания: у пациентов с длительностью заболевания 5-10 лет не было выявлено десинхронизации мю-ритма ни при наблюдении ни при выполнении движений в отличие от более короткого или более длинного течения болезни. В альфа-2 диапазоне при выполнении заданий мощность мю-ритма наоборот повышалась. Наличие операции: при выполнении моторных заданий у пациентов, перенесших операцию, было выявлено значительное повышение мощности спектра в альфа-2 диапазоне. Частота приступов: при наблюдении за движениями у пациентов с частыми приступами (несколько раз в день/неделю) и редкими приступами (менее 1 раза в несколько месяцев) десинхронизация альфа-2 ритма была достоверно больше, чем в контрольной группе. У пациентов с редкими приступами десинхронизация в центральных областях наблюдалась в диапазоне медленных тета-1 и тета-2 частот.

Достоверное для каждой задачи влияние сочетания факторов «гемисфера»\*«локализация» было показано в результате дисперсионного анализа с учетом факторов «ритм», «гемисфера» и «локализация». Наименьшие изменения мощности были выявлены в задаче «наблюдение». В задаче «выполнение» наблюдались наибольшие различия по полушариям и локализации электрода. Дисперсионный анализ ANOVA для суммарной мощности спектра с учетом факторов «моторное движение», «гемисфера» и «локализация» отдельно для «наблюдения» и «выполнения» движений показал значимое влияние как одного фактора «моторное движение», так и взаимодействия всех факторов «моторное движение»\*«гемисфера»\*«локализация» и при наблюдении, и при выполнении.

Динамика мощности сигнала сильно различалась в разных полушариях и долях мозга, на разной глубине, а также в зависимости от задачи и типа движения. Повышение мощности спектра происходило в левой лобной доле при реализации социально окрашенных задач (наблюдение, выполнение моторного акта и статичная картина неподвижного актёра) в

большей степени при наиболее сложном типе движения - перемещения чашки, а также в третьем и шестом контакте. Снижение мощности спектра сигнала происходило при просмотре движущегося шарика в правом полушарии, а также в других задачах в левой височной доле и в поверхностных электродах 5 и 6 правого полушария мозга.

*Заключение:* Проведенное нами исследование показало, что задачи, такие, как наблюдение и выполнение различных двигательных актов сопровождаются статистически значимым снижением уровня десинхронизации в диапазоне частот альфа-активности в обеих группах испытуемых. Были выявлены различия в активации ЗСМ между здоровыми испытуемыми и пациентами с эпилепсией. Также было показано, что подкорковые области височной и лобных долей активируются в ответ на предъявляемые стимулы.

1. Mukamel R. et al. Single neuron responses in humans during execution and observation of actions // *Curr Biol.* 2010 Apr 27; 20(8): 750–756. doi: 10.1016/j.cub.2010.02.045]

## ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ В ВОДНОМ ЛАБИРИНТЕ МОРРИСА У ВЗРОСЛЫХ КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ИХ ПРОЖИВАНИЯ

*Груздева В.А., Шаркова А.В., Павлова И.В., Григорьян Г.А., Зайченко М.И.*

*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*email:*

*Введение.* Стресс в раннем возрасте оказывает серьезные последствия на эмоциональную, социальную и трудовую жизнь взрослого человека. Влияя и атипически модифицируя нормальное развитие гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, иммунной/нейровоспалительной и других систем организма, ранний стресс приводит к развитию целой серии психопатологий и нервно-дегенеративных заболеваний, включая депрессию, болезни Паркинсона и Альцгеймера. В последнем случае это достигается через атрофические дегенеративные процессы во фронтальной коре и гиппокампе, развитие abortивного и ослабленного нейрогенеза, недостатка трофических факторов, ослабления длительной посттетанической потенциации и т.д. Существует немало работ, в которых исследовали влияние нейровоспалительного стресса на поведение грызунов в водном лабиринте Морриса. Но, во-первых, во всех этих работах исследовали влияние воспалительного процесса, вызванного за несколько часов до тестирования. Практически не исследовано влияние раннего (отдаленного) провоспалительного стресса на обучение и пространственную память в лабиринте Морриса. Во-вторых, нет работ, в которых бы исследовали комбинированное влияние раннего провоспалительного стресса с другим сильным стрессовым воздействием (социальной изоляцией) и возможность коррекции негативных последствий стресса с помощью особых условий проживания. Целью настоящей работы было исследование изолированного и совместного с социальной изоляцией влияния раннего липополисахаридного стресса (ЛПС) на обучение и память в водном лабиринте Морриса у взрослых крыс обоего пола и влияния на поведение обогащенной среды.

*Методика.* Провоспалительный стресс создавали путем подкожного введения бактериального липополисахарида (группа ЛПС) крысам на 3-й и 5-й дни жизни (50 мкг/кг); контрольная группа в этом возрасте получала инъекцию физиологического раствора (группа ФИЗ). В возрасте 1.5-4 мес каждую группу делили на 3 подгруппы: проживавшую в стандартных условиях (СТАНД), в обогащенной среде (20 мин через день, ОС), и в социальной изоляции (СИ). У взрослых животных (5 мес) проводили обучение в водном лабиринте Морриса. Исследовали динамику обучения (долгосрочную память) – 9 дней по две пробы в день, интервал между пробами – 10 мин ; краткосрочную память – 4 дня по 4 пробы в день, интервал между пробами -30 с. Размеры бассейна: 1,5 м высота, 60 см – глубина, уровень наполнения водой - 30 см. Крысы должны были находить скрытую под водой платформу (Д - 10 см) и взбираться на нее. Каждая проба продолжалась 60 с. После окончания обучения проводили тест-пробу без платформы, время пробы 60 с. Оценивали латентный период до достижения платформы, проплытую дистанцию, скорость плавания и время пребывания в квадранте платформы. Анализ проводили с помощью многофакторного дисперсионного анализа ANOVA.

*Результаты.* Все группы крыс хорошо обучались находить скрытую под водой платформу после 9 дней обучения. Латентный период нахождения платформы к 9 дню сокращался с 60 с. до 10-15 с., а проплытое расстояние – с 1400-1300 см до 200 см. Анализ взаимодействия ГРУППА x ПОЛ x УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ x ДНИ выявил достоверные различия [ $F(16, 717)=1,91, p=0,0172$ ]. В группе ЛПС самцы, содержащиеся в стандартных условиях, к концу обучения тратили больше времени для нахождения скрытой под водой платформы, чем самцы, содержащиеся в условиях социальной изоляции и обогащенной среды. Взаимодействие факторов ГРУППА x ПОЛ x УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ, т.е. вне зависимости от дней тестирования, также оказалось достоверным [ $F(2, 1438)=5,94, p=0,0026$ ] и подтвердило отмеченную выше зависимость. Суммарно за весь период обучения в группе ЛПС самцы, содержащиеся в стандартных условиях, находили платформу существенно дольше, чем самцы, находившиеся в условиях социальной изоляции ( $p=0,008$ ). В контрольной ФИЗ группе самцы, содержащиеся в обогащенной среде, обучались быстрее других групп (ОС vs СТАНД,  $p=0,04$ ; ОС vs СИ,  $p=0,0008$ ). Похожее поведение было обнаружено у самок ЛПС и ФИЗ групп. В обоих случаях самки, содержащиеся в условиях ОС и СИ, находили платформу быстрее, чем самки, проживавшие в стандартных условиях. Примерно такие же характеристики обучения проявились для разных групп животных с помощью анализа показателя - «проплываемое расстояние». Тест-проба выявила достоверную разницу между временем пребывания крыс в квадранте платформы по сравнению с пребыванием их в других квадрантах бассейна. Различий между группами в пробе обнаружено не было, по-видимому, из-за того, что все группы к 9-му дню достигали платформы примерно за одно и то же время.

Различий в проявлениях рабочей памяти в целом, у самцов и самок разных групп по времени достижения платформы и проплываемого расстояния, как и между ЛПС и ФИЗ группами, не наблюдалось. Достоверным не было также взаимодействие исследованных факторов между собой.

*Заключение.* Крысы-самцы, содержащиеся в обогащенной среде и не получавшие раннего провоспалительного стресса, обучались быстрее и проявляли лучшую долгосрочную память, чем крысы, проживавшие в стандартных условиях или в социальной изоляции. Крысы, получавшие ранний провоспалительный стресс и содержащиеся в обогащенной среде, обучались быстрее, чем те, которые проживали в стандартных условиях. Неожиданным оказалось то, что крысы, получавшие двойной стресс (ЛПС и социальную изоляцию), находили платформу быстрее, чем крысы, получавшие только один ранний ЛПС стресс и содержащиеся в стандартных условиях. Существенных различий в проявлениях рабочей памяти в настоящих опытах нами не обнаружено.

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ В ФОНЕ И ПРИ ПРОСЛУШИВАНИИ РЕАЛИСТИЧНЫХ СТИМУЛОВ У ПАЦИЕНТОВ СИНДРОМА АРЕАКТИВНОГО БОДРСТВОВАНИЯ И СОСТОЯНИЯ МИНИМАЛЬНОГО СОЗНАНИЯ ПОСЛЕ ТРАВМЫ МОЗГА

*Зигмантович А.С.*

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук  
e-mail: [alexzig@ihna.ru](mailto:alexzig@ihna.ru)*

Тяжелая черепно-мозговая травма (тЧМТ) представляет серьезную проблему для здоровья и является одной из основных причин высокой смертности и инвалидизации во всем мире. Для оптимизации лечения и развития методов реабилитации пациентов с тЧМТ необходима точная диагностика степени сохранности когнитивных функций при наличии структурного повреждения головного мозга и оценка полноты и сроков дальнейшего восстановления.

Среди синдромов угнетенного сознания травматического генеза выделяют синдром ареактивного бодрствования (unresponsive wakefulness syndrome, UWS), который раньше именовался вегетативным состоянием, и состояние минимального сознания (minimally conscious state, MCS). Оценка состояния пациентов при этом основывается на клиническом тестировании по нескольким общепринятым шкалам (шкалы комы Глазго, восстановления после комы и др.). Основной проблемой постановки клинического диагноза является отсутствие вербального контакта с пациентом при оценке его поведенческих реакций. Это ведет к ошибкам, число которых достигает 40% случаев. При этом дополнительные нейрофизиологические исследования (ЭЭГ, ВП, фМРТ и др.) пациентов в состоянии restingstate (спокойного бодрствования, фоновое состояние) и при различных функциональных нагрузках (oddball-парадигма, прослушивание музыкальных стимулов, ТМС и др.) способны дать дополнительную информацию о сохранности у пациента когнитивных функций. Данная работа направлена на выявление функциональных связей, характерных для UWS и MCS при посттравматическом угнетении сознания. Для определения функциональных связей использовали вейвлет-анализ, анализ нелинейной причинности по Грейнджеру и корреляционный анализ, которые способны выявить отличия взаимодействий областей активации мозга в состоянии покоя и при функциональных нагрузках.



Всего были зарегистрированы и проанализированы биопотенциалы у 31 пациента с тЧМТ. 11 из них находились в UWS, 20 - в MCS. Регистрация биопотенциалов проводилась на оборудовании фирмы Нейроботикс (Россия) от 32 электродов, расположенных по системе 10-10%. В качестве стимулов использовали отрывки песен, то есть помимо музыки присутствовала и речь. Звуковая последовательность включала в себя 6 мелодий, число повторений одного отрывка – 11 раз, длительность предъявления каждого – 4 с. Стимулы подавались бинаурально. В отдельных случаях стимуляция могла быть остановлена. Критерием для остановки было появление эпилептиформной активности на ЭЭГ с тенденцией к ее генерализации. К анализу принимались записи, включающие не менее 30 стимулов. Далее по всем стимулам проводилось усреднение с построением аналога ВП. Для анализа фоновых записей псевдослучайным образом расставлялись 30 меток на безартефактных участках ЭЭГ. В дальнейшем анализе также проводили усреднение по всем меткам с построением аналога ВП. Эпоха анализа ответов составляла 600 мс от подачи стимула или метки на фоновой записи.

Вейвлет-анализ проводили по всем возможным парам отведений по программе Brain Connections (Россия). Значения синхронности рассчитывались в диапазоне частот 1-15 Гц. Причинность по Грейнджеру (порядок модели  $n=10$ ) и корреляционный анализ вычисляли по программе Brainstorm на базе MATLAB. Контрольная группа состояла из 10 здоровых испытуемых.

При анализе фоновых значений вейвлет-связей было выявлено, что у пациентов в UWS они значимо снижены относительно нормы, тогда как у пациентов в MCS- значимо усилены. Анализ функциональных связей по Грейнджеру и корреляционный анализ показали, что для пациентов в MCS в состоянии спокойного бодрствования характерно наличие межполушарных связей, а также связей между затылочными и лобными областями обоих полушарий, тогда как у пациентов в UWS данные связи не выражены. Полученные данные позволяют предположить, что у пациентов в MCS остаются функционально-сохранными такие функциональные сети как слуховая, латеральные лобно-теменные, а также сеть исполнительного контроля. У всех пациентов с посттравматическим нарушением сознания при прослушивании музыкальных стимулов выявилось большое количество различных функциональных связей. При этом для пациентов в MCS были выявлены связи в обоих полушариях, тогда как для пациентов в UWS выделялись связи только в одном из полушарий, которое варьировалось у разных пациентов. Полученные данные могут отражать работу функциональных сетей, непосредственно активирующихся при прослушивании стимулов, а именно слуховая и височно-теменная, и участвующих в обработке музыкальной и языковой информации.

Выявленные отличия функциональных связей могут отражать сохранность переключения между функциональными сетями и их взаимодействие при анализе слуховой информации у пациентов с угнетением сознания вследствие тЧМТ. При этом можно предположить, что наличие межполушарных функциональных связей у пациентов с MCS отражает разные этапы переработки слуховой и, в частности, речевой информации.

Выявленные особенности функциональных связей у пациентов с угнетением сознания травматического генеза позволяют разделять синдромы UWS и MCS с высокой степенью достоверности. Данный метод может быть использован вместе с клинической оценкой для уточнения степени сохранности когнитивных функций и снижения риска постановки ошибочного диагноза.

Список цитируемой литературы:

1. Giacino J. T., Fins J. J., Laureys S., Schiff N. D. (2014). Disorders of consciousness after acquired brain injury: the state of the science. *Nature Reviews Neurology*, 10(2), 99.
2. Schnakers C., Vanhaudenhuyse A, Giacino J, Ventura M, Boly M, Majerus S, Moonen G, Laureys S. (2009). Diagnostic accuracy of the vegetative and minimally conscious state: clinical consensus versus standardized neurobehavioral assessment. *BMC neurology*, 9(1), 35.
3. Caplan B., Bogner J., Brenner L., Hauger S. L., Schanke A. K., Andersson S., Løvstad M. (2017). The clinical diagnostic utility of electrophysiological techniques in assessment of patients with disorders of consciousness following acquired brain injury: a systematic review. *Journal of Head Trauma Rehabilitation*, 32(3), 185-196.
4. Niazy R. K., Cole D. M., Beckmann C. F., Smith S. M. (2015). Resting-state networks. In *fMRI: From Nuclear Spins to Brain Functions* (pp. 387-425). Springer, Boston, MA.
5. Романов А. С., Шарова Е. В., Кузнецова О. А., Окнина Л. Б., Волынский П. Е., Щекутьев Г. А. (2010). Возможности метода вейвлет-синхронизации в оценке длиннolatентных компонентов акустического вызванного потенциала здорового человека. *Журн. высш. нерв. деят.*, 60(6), 777-783.

## СРЕДНИЙ МОЗГ ЧЕЛОВЕКА ГЕНЕРИРУЕТ ПОТЕНЦИАЛ, СВЯЗАННЫЙ С КОНЦОМ ЗВУКОВОГО СТИМУЛА

*Канцерова А. О.<sup>1</sup>, Окнина Л. Б.<sup>1</sup>, Машеров Е. Л.<sup>2</sup>, Подлепич В. В.<sup>2</sup>,  
Вологодина Я. О.<sup>2</sup>, Ланге А.М.<sup>3</sup>, Пицхелаури Д. И.<sup>2</sup>*

*1 – Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН*

*2 - Национальный медицинский исследовательский  
центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко*

*3- Сколковский институт науки и технологий*

*e-mail: [anna.kantserova@gmail.com](mailto:anna.kantserova@gmail.com)*

Изучение электрофизиологических особенностей слухового анализатора человека представлено, главным образом, неинвазивной регистрацией вызванных потенциалов (ВП), выполняемой на электро- или магнитоэнцефалографах (Noda et al., 1998). Данные о функционировании слуховых структур ствола мозга, полученные таким методом, обладают меньшей надёжностью и точностью, чем данные для коры больших полушарий (Pérez-abaloetal., 1988). Отчасти это связано с перекрыванием во времени ответов от разных уровней обработки звуков и наибольшей амплитудой сигналов с коры из-за её поверхностного расположения (Pictonetal., 1974).

Недостаток информации о роли срединных мозговых структур в обработке звуковых сигналов у человека во многом определяется невозможностью регистрации биопотенциалов с этих структур мозга у здоровых добровольцев. Однако, вследствие усовершенствования стереотаксических нейрохирургических операций и появления глубинной электростимуляции мозга, в последние десять лет при некоторых видах патологии совместно с оказанием высокотехнологичной медицинской помощи стали проводиться исследования ствольных структур головного мозга у пациентов, которым были имплантированы электроды.

В данной работе запись ВП проводилась от неповреждённой ткани среднего мозга. Анализировались слуховые ВП, зарегистрированные у пациентов, которые получали хирургическое лечение опухоли четвёртого желудочка, расположенной в непосредственной близости к водопроводу мозга, или опухоли собственно ствола мозга. В дооперационном периоде все пациенты проходили полное клиническое обследование и давали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Все участвовавшие в исследовании пациенты не имели патологий слуховой системы, а также были чётко ориентированы в месте, времени и пространстве и не имели психических отклонений. Оперативное лечение проводилось врачом-нейрохирургом, проф., д.м.н. Д.И. Пицхелаури.

После этапа удаления опухоли в водопровод мозга устанавливался глубинный электрод с круглым поперечным сечением 2,7 мм в диаметре и 3 кольцевыми контактами. Такой диаметр обеспечивал плотное прилегание глубинного электрода к стенкам водопровода. Из трёх кольцевых контактов два наиболее дистальных располагались в просвете водопровода и были регистрирующими, а самый проксимальный находился в четвертом желудочке, был референтным для двух других кольцевых контакта и закрывался ватой для предотвращения прямого электрического контакта со структурами верхних

отделов четвёртого желудочка. Ширина каждого кольцевого контакта составляла 3 мм, расстояние между двумя соседними контактами – 6,5 мм, а между центрами двух соседних контактов – 9,5 мм.

Как правило, выделяют четыре основные характеристики звука: частоту, длительность, громкость и фазу. Исследования на животных с применением регистрации активности нейронов нижних холмиков – главного слухового центра среднего мозга – показали, что клетки этой структуры отвечают, главным образом, на изменение частоты и длительности звука (Kasai et al., 2012; Stiebler, Ehret, 1985). Основываясь на этих данных, было решено предъявлять пациентам тоны различной частоты (600, 800, 1000, 2000 и 4000 Гц) и длительности (80, 90, 100 мс) в псевдослучайном порядке и с одинаковой вероятностью появления – по 25 тонов каждой частоты – для исключения привыкания и когнитивного ответа на редкие стимулы. Отдельным каналом одновременно с регистрацией биоэлектрических потенциалов проводилась запись электрограммы звуковых стимулов, на которой фиксировался ток, подаваемый в наушники при звуковой стимуляции. Электрограмма позволяла с высокой точностью оценить время появления компонентов ВП относительно начала и конца звуковых стимулов.

На полученных ВП выделялись коротколатентные пики, отражающие проведение звукового сигнала по волокнам среднего мозга, а также высокоамплитудный длиннолатентный пик с широким основанием – пик E. Он следовал через 90-160 мс после начала стимула. Пик E не был ранее описан в литературе. Он назван по первой букве слова end (англ. end - «конец»), так как следовал за концом звукового стимула.

Относительно большого разброса латентностей пика E было выдвинуто три гипотезы:

1. Разброс случаен и является следствием широкого основания пика
2. Латентность пика E зависит от длительности звукового стимула
3. Латентность пика E зависит от частоты звукового стимула.

Для проверки первых двух гипотез было проведено сравнение латентностей пика E, зарегистрированного в ответ на стимулы разной длительности, при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни. В результате получены статистически достоверные отличия ( $p < 0,05$ ). Таким образом первая гипотеза отвергается, а вторая гипотеза, согласно которой латентность пика E зависит от длительности звукового стимула, принимается. Это означает, что пик E отражает реакцию мозга на конец звука.

Для проверки третьей гипотезы было проведено сравнение латентностей пика E, зарегистрированного в ответ на стимулы разной частоты, при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистически достоверных отличий получено не было. Таким образом третья гипотеза отвергается.

Для установления местоположения источника компонента E было проведено сравнение амплитуд пиков E, зарегистрированных на роstralном и каудальном кольцевых контактах. У одной трети пациентов амплитуда пика E, зарегистрированного на роstralном кольцевом контакте, превышала амплитуду пика E, зарегистрированного на каудальном кольцевом контакте. У второй трети соотношение амплитуд пика E, записанного с двух

кольцевых контактов, было обратным. У последней трети эти амплитуды были почти одинаковыми. Полученные данные указывают, с одной стороны, на изменение положения контактов глубинного электрода относительно структур среднего мозга у разных пациентов, а с другой стороны, на расположение источника генерации пика E между двумя контактами.

Таким образом, в данной работе выделен пик E, который указывает на конец звукового стимула и генерируется средним мозгом.

#### Список цитируемой литературы:

1. Kasai M., Ono M., Ohmori H. Distinct neural firing mechanisms to tonal stimuli offset in the inferior colliculus of mice in vivo // *Neurosci. Res.* 2012. V. 73. P. 224–237.
2. Noda K., Tonoike M., Doi K., Koizuka I., Yamaguchi M., Seo R., Matsumoto N., Noiri T., Takeda N., Kubo T. Auditory evoked off-response: Its source distribution is different from that of on-response // *Neuroreport.* 1998. V. 9(11). P. 2621-2625.
3. Pérez-abalo M., Valdés-sosa M., Bobes M., Galán L., Biscay R. Different Functional Properties of on and Off Components in Auditory Brain stem Responses to Tone Bursts // *International Journal of Audiology.* 1988. V. 27(5). P. 249–259.
4. Picton T., Hillyard S., Krausz H., Galambos R. Human auditory evoked potentials. I: evaluation of components // *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology.* 1974. V. 36. P. 179-190.
5. Stiebler I., Ehret G. Inferior colliculus of the house mouse. I. A quantitative study of tonotopic organization, frequency representation, and tone-threshold distribution // *The Journal of Comparative Neurology.* 1985. V. 238(1). P. 65–76.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОККЛЮЗИЯ СРЕДНЕМОЗГОВОЙ АРТЕРИИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ГИППОКАМП-ЗАВИСИМЫХ ПОСТИНСУЛЬТНЫХ РАССТРОЙСТВ: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДВУХ МОДЕЛЕЙ

*М.Ю.Касаткина<sup>1,2</sup>, Ю.В.Мусеева<sup>1</sup>, М.В. Онуфриев<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук*

<sup>2</sup> *Научно-практический психоневрологический центр им З.П. Соловьева*

*e-mail: marina.kasatkina@ihna.ru*

Существенная часть пациентов, перенесших ишемический инсульт, имеют отдаленные последствия в виде когнитивных и психических (в первую очередь, депрессивных) расстройств. Вовлеченность гиппокампа в патогенез этих, зачастую коморбидных, патологий, а также отсутствие четкой корреляции их развития с тяжестью и локализацией инфаркта мозга привели к формулировке гипотезы о том, что в основе этих патологий лежит дистантное глюкокортикоид-зависимое повреждение гиппокампа. Одним из следствий общей гипотезы является предположение о том, что повреждение гиппокампа обусловлено, как индивидуальными особенностями функционирования нейроэндокринной системы, так и ее реакцией на стресс, ассоциированный с инсультом. Избыточная секреция

кортизола и его взаимодействие с рецепторами гиппокампа может вызывать нейровоспаление с последующей нейродегенерацией, а также нарушать нейрогенез, приводя к нарушению функционирования гиппокампа и развитию когнитивных и эмоциональных расстройств. Исследования по проверке этой гипотезы проводятся параллельно в эксперименте и клинике.

В данной работе представлен первый фрагмент экспериментального исследования, направленного на поиск адекватных моделей для изучения дистантного повреждения гиппокампа при ишемическом инсульте. Проведено сравнение двух моделей унилатеральной фокальной ишемии в результате нарушения кровообращения в средней мозговой артерии у крыс [1, 2]. Эти известные и широко используемые модели окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА), как показано в наших пилотных экспериментах, близки по тяжести, но различаются по вовлеченности нейроэндокринной системы.

Цель исследования - на двух моделях провести сравнительный анализ изменений уровня кортикостерона и провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  в отделах головного мозга (гиппокампе, фронтальной коре) и в крови.

Для моделирования использовали 48 самцов крыс линии Вистар (группы ОСМА, ложнооперированные, интактный контроль). Животных декапитировали через 72 ч после операции. Показано, что динамика неврологического дефицита в результате ОСМА, оцененного по разным шкалам, не зависит от использованной модели ОСМА. По предварительным данным, объем ишемического очага также не различается в данных моделях. Снижение массы тела наблюдается в обеих моделях, более выражено в модели Koizumi et al. Однако, различия между моделями статистически не значимы. Уровень кортикостерона в декапитационной крови, а также в гиппокампе и фронтальной коре (контра- и ипсилатеральном полушарии) на модели Koizumi et al. статистически значимо увеличивается по сравнению с таковым у интактных и ложнооперированных животных. На модели Longa et al. уровень кортикостерона возрастает только в ипсилатеральном полушарии гиппокампа через 72 ч, что свидетельствует о значительно менее выраженной активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси при ОСМА в этой модели. Уровень ИЛ-1 $\beta$  повышается значимо только на модели Koizumi et al. в периферической крови через 48 ч, а в гиппокампе ипсилатерального полушария через 72 ч.

Выводы: Полученные на первом этапе работы различия в выбросе в кровь и накоплении в гиппокампе кортикостерона и провоспалительного цитокина при отсутствии различий неврологического дефицита и объема инфаркта указывает на валидность сравнительного исследования двух выбранных моделей ОСМА для изучения механизмов дистантного кортикоид-зависимого повреждения гиппокампа и вклада этого повреждения в развитие отдаленных постинсультных когнитивных и эмоциональных нарушений.

Работа поддержана проектом РНФ 20-65-47029.

Список цитируемой литературы:

1. Koizumi, J. Experimental studies of ischemic brain edema / J. Koizumi, Y. Yoshida, T. Nakazawa, G. Ooneda // Nosotchu – 1986. – Т. 8 – № 1 – 1–8с.

2. Longa, E.Z. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. / E. Z. Longa, P. R. Weinstein, S. Carlson, R. Cummins // Stroke – 1989. – Т. 20 – № 1 – 84–91с.

## АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВЯЗЕЙ МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С МЕНИНГИОМАМИ МЕДИОБАЗАЛЬНЫХ ОТДЕЛОВ ПРАВОЙ И ЛЕВОЙ ВИСОЧНОЙ ДОЛИ ПО ДАННЫМ ЭЭГ И фМРТ В СОСТОЯНИИ ПОКОЯ

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

<sup>1</sup>ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАУ “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко” Минздрава России, Москва, Россия

*e-mail: [Kylaria@mail.ru](mailto:Kylaria@mail.ru)*

К числу актуальных направлений нейрофизиологии относится изучение церебральной структурно-функциональной организации управляющих функций (executive functions), под которыми понимают комплекс процессов, осуществляющих инициацию, планирование, регуляцию и контроль любой целенаправленной деятельности в норме и патологии [Miyake et al., 2000; Diamond, 2013; Купцова с соавт., 2016]. Обеспечение управляющих функций (УФ) связывают по большей части с активностью префронтальных отделов мозга [Лурия, 2002]. Вместе с тем, механизмы формирования рабочей памяти (в том числе зрительной), как одного из компонентов УФ, и причастность к этому височных отделов полушарий являются малоизученными.

Работа направлена на уточнение вклада правой и левой височных долей в формирование зрительной рабочей памяти.

*Методика:* Основная группа наблюдений - пациенты с внеозговой опухолью медиобазальных отделов правого (n=7) и левого (n=7) полушарий головного мозга. Группа контроля – 9 здоровых испытуемых. В группах наблюдений проводилось сравнительное исследование функциональных связей мозга по оценке коннективности фМРТ, а также когерентности ЭЭГ. Данные сопоставляли с результатами нейропсихологического тестирования. фМРТ 3Т записывали в состоянии покоя с закрытыми глазами. В каждой выборке наблюдений анализировали коннективность сети УФ между заданными областями интереса (рис.1) с помощью программы CONN в среде Matlab, ver.2014.

Многоканальную ЭЭГ также регистрировали в состоянии покоя при закрытых глазах, монополярно, с полосой пропускания – 0.3–35 Гц. Рассчитывали показатели когерентности (Ког ЭЭГ) для всех возможных сочетаний пар отведений по диапазонам физиологических ритмов: дельта, тета, альфа1 (7.7-8.6 Гц), альфа2 (9-10.2 Гц), альфа3 (10.5-12.5 Гц), бета1 (12.9-20.3 Гц), бета2 (20,7-30.1 Гц) – для каждой выборки наблюдений, а также различия этого показателя между группами с оценкой достоверности по критерию Манна-Уитни [Воронов с соавт., 2003]. Нейропсихологическое тестирование включало классическую методику А.Р.Лурия [1969], а также оригинальную методику оценки зрительной памяти

[Кроткова, 2016], состоящую из предъявления визуальных стимулов для запоминания, их последующего свободного воспроизведения, а затем - узнавания.

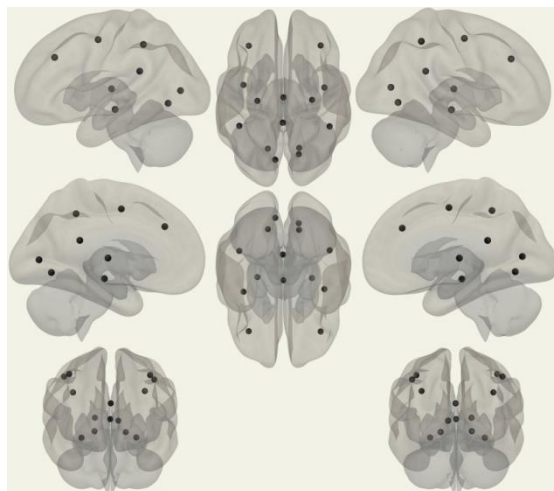


Рис.1 «Маска» для оценки коннективности фМРТ состояния покоя. Она включает следующие «зоны интереса»: Frontal Mid, Parietal Inf, Hippocampus, Lingual, Calcarine, Precentral структуры правого и левого полушарий, а также Thalamus и Cingulum, согласно координатам атласа AAL.

*Результаты:* Сравнительный анализ КогЭЭГ выявил высокодостоверные ( $p < 0,001$ ), диффузные и разнонаправленные отличия от нормы показателей межцентральных связей в группах пациентов. Общей для всех является тенденция к ослаблению межполушарных КогЭЭГ наряду с патологическим усилением внутрислошарных. Отмечены и особенности, сопряженные с латерализацией опухоли и наиболее отчетливые в диапазонах частот от дельта до альфа2. Межполушарные связи при левостороннем поражении ослаблены во всех регионах, а при правостороннем - преимущественно в задних отделах полушарий. Внутрислошарные связи при левосторонней опухоли усилены более асимметрично (во всех областях «пораженного» полушария при относительной их сохранности справа), тогда как при правосторонней опухоли - билатерально в передних отделах, не затрагивая по большей части задние. Отклонения от нормы одноименных показателей КогЭЭГ при левополушарном поражении варьировались от 14 до 74% и были больше, чем при правополушарном (7 - 58 %).

Анализ коннективности сети УФ фМРТ в состоянии покоя показал резкое уменьшение протяженных (диагональных) межструктурных связей сети УФ, касающееся лобной, прецентральной и теменной зон левого полушария, а также симметричных затылочных (зрительных) областей и наиболее выраженное при поражении левой гемисферы. Вместе с тем, при правосторонней височной патологии теменная область демонстрирует нарастание числа межструктурных функциональных связей. В обеих выборках ослабевает межгиппокампальное взаимодействие. Наиболее достоверные отличия от нормы касаются активности зрительных корковых зон.



Сопоставление данных коннективности фМРТ и КогЭЭГ в состоянии покоя выявляет сходную топографию функциональных нарушений и преобладание их по числу и степени изменяющихся связей у пациентов с опухолью височных отделов левого полушария.

Нейропсихологическая диагностика по методу А.Р.Лурия выявила в целом высокую сохранность высших психических функций у пациентов обеих групп. Вместе с тем, по результатам более сенсibilизированной методики оценки зрительной памяти [Кроткова, 2016], левополушарному поражению соответствовали нарушения при устном воспроизведении зрительной информации, не характерные для пациентов с правосторонним поражением.

*Заключение.* Оценка функциональных связей по данным фМРТ и КогЭЭГ в состоянии покоя показала, что оба независимых метода демонстрируют сходные топографические паттерны нарушений функциональной активности мозга при опухолевом поражении височной доли. Преобладание этих нарушений в группе с левосторонним повреждением согласуется с данными нейропсихологического тестирования о наличии у данных больных определенных трудностей при вербальном воспроизведении содержания зрительной памяти.

## ЭЭГ-РИТМЫ ПРИ ФОРСИРОВАННОМ ПРОБУЖДЕНИИ ОТ ТРЕТЬЕЙ СТАДИИ ОРТОДОКСАЛЬНОГО СНА.

*Левкович К.М., Украинцева Ю.В.*

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

*e-mail:kliaukovich@ihna.ru*

Переход от сна к бодрствованию не является одномоментным процессом (Halászetal., 2004). Сон характеризуется либо отсутствием сознательных переживаний, либо наличием низкоуровневых форм сознания, например, таких как сновидения (Hobson, 2009). Для анализа сложных признаков сигналов необходим высокий уровень сознания, который невозможен во время сна. Переход от сна к бодрствованию обеспечивается работой многочисленных нервных центров и происходит не одномоментно (Scammelletal., 2017). Поэтому в процессе пробуждения электрофизиологические маркеры сна сосуществуют с активностью, характерной для бодрствования, постепенно заменяясь ею. Также и бодрствующий уровень сознания устанавливается не сразу. По мере его восстановления меняется характер реакции на стимуляцию, переходя от автоматической детекции изменений простых, сенсорных, характеристик стимулов к сознательному восприятию глобальных нарушений регулярности следования стимулов. Для того чтобы проследить за изменением степени осознанности реакции на внешние стимулы в процессе перехода от сна к бодрствованию, мы использовали метод регистрации и анализа вызванных потенциалов (ВП) в ответ на звуковые последовательности парадигмы local-global (Bekinschtein etal., 2009). Данная парадигма предполагает регистрацию ВП на последовательности звуков, в которых встречаются 2 типа нерегулярностей: локальный – появление одного отличающегося звука, и глобальный – появление отличающейся пачки звуков. В результате она дает возможность

разграничить реакции, соответствующие разным уровням сознания: низкому, или неосознанному, и высокому – осознанному и направленному. Нашей целью было определение момента перехода от сна к бодрствованию, во время которого возникает сознательное восприятие сложных звуковых паттернов. Мы предполагали, что сознательная реакция на последовательность с глобальной нерегулярностью в виде компонента P300 может возникать еще до появления своевременного моторного ответа на них.

Два добровольца, женщина (20 лет) и мужчина (23 года), без неврологических нарушений и нарушений сна участвовали в пяти и шести экспериментах, соответственно. Мы записали ЭЭГ активность в ответ на последовательность с глобальной нерегулярностью до сна. Последовательность с глобальной нерегулярностью. Данная последовательность состояла из двух типов пачек: часто встречающаяся пачка (80%), или глобальный стандарт, и редко встречающаяся пачка (20%), или глобальный девиант. Глобальный стандарт состоял из четырех одинаковых звуков (485-970-1455 Гц) и пятого, который был выше по частоте (515-1030-1545 Гц). Глобальный девиант состоял из пяти одинаковых звуков (485-970-1455 Гц). По достижении испытуемым 3-й стадии ортодоксального сна подавался громкий звук – сигнал будильника – после чего включались последовательности звуков парадигмы local-global. После 2 минут отслеживания звуковых сигналов и реагирования на целевые паттерны испытуемому позволяли снова уснуть. Так за одиннадцать ночей мы записали 45 пробуждений, от трёх до шести пробуждений за ночь. Данные были обработаны и вейвлет анализ был проведен в программе BrainVision Analyzer 2.0, кластерный анализ для выявления глобального эффекта (глобальный девиант минус глобальный стандарт) был проведен в программе MATLAB R2019a, пакет FieldTrip. Анализировалось окно от 0 до 700 мс, где 0 – начало предъявления пятого звука в пачке.

Проанализировав ВП в ответ на глобальную нерегулярность в бодрствовании до сна, мы выявили лобно-центральную позитивность, схожую с субкомпонентом P3a (140-288 мс,  $p = 0.02$ ), которая постепенно переходит в теменную негативность, N400 (228-696 мс,  $p = 0.002$ ). По характеру ЭЭГ и наличию либо отсутствию адекватного двигательного ответа на значимые стимулы процесс пробуждения был разделен на 3 этапа. На первом этапе в ЭЭГ преобладают высокоамплитудные дельта- и тета-волны, нажатия на кнопку не регистрируются. На втором этапе на фоне доминирующего альфа-ритма регистрируются дельта- и тета-волны невысокой (до 70 мкВ) амплитуды, моторный ответ отсутствует или замедлен. На третьем этапе альфа-ритм и моторный ответ сопоставимы с таковыми в состоянии бодрствования перед сном. На первом и втором этапах кластерный анализ не выявил достоверных различий между ВП на стандартные и девиантные пачки. Однако вейвлет анализ показал различие в ЭЭГ ритмах на данных этапах. Так на первом этапе после сигнала будильника регистрировался низкочастотный дельта- и тета-ритмы, частота которых увеличивалась, а амплитуда уменьшалась одновременно с преобладанием тета- и альфа-ритмов в центральных отведениях. На втором этапе пробуждения теменной альфа ритм был неустойчив, дельта- и тета-ритмы преобладали в лобно-центральных отведениях. Третий этап характеризовался устоявшимся теменным альфа-ритмом и постоянным правильным нажатием на кнопку в ответ на девиантную пачку ( $539 \pm 54$  мс). На данном этапе кластерный анализ выявил статистически значимую разницу между девиантом и стандартом как в

компоненте P3a (152-232мс,  $p=0.02$ ), так и в позднем компоненте N400 (268-696 мс,  $p=0.002$ ). Вейвлет анализ показал, что на данном этапе теменной альфа ритм преобладал, как и в бодрствовании до сна.

На данном этапе мы можем говорить, что при пробуждении ВП, реакция на стимулы и ЭЭГ, характерная для бодрствования, восстанавливаются не сразу. На первом этапе пробуждения мы не выявили каких-либо значимых изменений ВП в ответ на глобальную нерегулярность, хотя эта глобальная нерегулярность являлась значимым стимулом. И только после восстановления альфа-ритма и двигательной реакции, мы зарегистрировали выраженные когнитивные компоненты: P3a и более поздний когнитивный компонент N400. P3a – компонент ВП, который рассматривается как коррелят автоматического привлечения внимания и бессознательной детекции изменений сенсорных характеристик стимула (Polich, 2007; Naccache et al., 2015), компонент N400 можно интерпретировать как индекс обработки значимой информации (Kutas & Federmeier, 2011). Поэтому можно заключить, что при пробуждении хорошо выраженные когнитивные компоненты ВП можно зарегистрировать только после восстановления альфа-ритма, и этот момент по времени совпадает с восстановлением моторного ответа на значимый сигнал.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта N 19-313-90067.

#### Список цитируемой литературы

1. Bekinschtein T. A., Dehaene S., Rohaut B., Tadel F., Cohen L., & Naccache L. 2009. Neural signature of the conscious processing of auditory regularities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(5), 1672-1677.
2. Halász, P., Terzano, M., Parrino, L., & Bódizs, R. 2004. The nature of arousal in sleep. *Journal of sleep research*, 13(1), 1-23.
3. Hobson, J. A. 2009. REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(11), 803-813.
4. Kutas, M., & Federmeier, K. D. 2011. Thirty years and counting: finding meaning in the N400 component of the event-related brain potential (ERP). *Annual review of psychology*, 62, 621-647.
5. Naccache, L., King, J. R., Sitt, J., Engemann, D., El Karoui, I., Rohaut, B., ... & Dehaene, S. 2015. Neural detection of complex sound sequences or of statistical regularities in the absence of consciousness?. *Brain*, 138(12), e395-e395.
6. Polich J. 2007. Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clinical neurophysiology: official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 118(10), 2128–2148.
7. Scammell, T. E., Arrigoni, E., & Lipton, J. O. 2017. Neural circuitry of wakefulness and sleep. *Neuron*, 93(4), 747-765.

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ БЕЛКОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ  
СОПРОВОЖДАЕТ ХОЛИНЕРГИЧЕСКУЮ ГИПОФУНКЦИЮ В МЕДИАЛЬНОМ  
СЕПТАЛЬНОМ КОМПЛЕКСЕ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ОЛЬФАКТОРНОЙ БУЛЬБЭКТОМИИ

*Недогреева О.А.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Высшей Нервной  
Деятельности и Нейрофизиологии РАН*

*e-mail: [nedogreewaolga@gmail.com](mailto:nedogreewaolga@gmail.com)*

Удаление обонятельных луковиц у грызунов (ольфакторнаябульбэктомия, ОБ) приводит к широкому спектру морфофункциональных нарушений в головном мозге и является распространенной моделью симптомов клинической депрессии и нейродегенеративных заболеваний (Bobkovaetal., 2014). Одним из эффектов ОБ является гипофункция холинергической системы переднего мозга. Механизмы нейродегенеративных патологий включают в себя развитие окислительного стресса (Radietal., 2014), однако для модели ОБ этот аспект остается недостаточно изученным.

В настоящей работе мы исследовали влияние ОБ на состояние рабочей памяти и развитие окислительного стресса (окислительное повреждение белков и нуклеиновых кислот) в холинергических структурах переднего мозга: медиальном септальном комплексе (MS+DBB), гиппокампе (ГК) и коре головного мозга самцов мышей C57Bl/6.

Бульбэктомию осуществляли путем аспирации под хлоралгидратным наркозом (ОБ, n=18). В качестве контрольной группы использовали ложнооперированных (ЛО, n=13) и интактных (ИК, n=5) животных.

Рабочую память проверяли через 14 сут. в Т-образном лабиринте, используя реакцию спонтанного чередования. Животных (ЛО, n=9, ОБ, n=10) в течение 5 дней (по 10 попыток в день с интервалом 1 мин.) помещали в стартовый рукав лабиринта и регистрировали процент ошибок в чередовании тестовых рукавов.

Через 7 либо 30сут. после ОБ животных декапитировали, образцы мозга изымали для биохимического (ИК, n=5, ОБ, n=9, ЛО, n=8) и иммуногистохимического (ОБ, n=9, ЛО, n=5) исследования.

Содержание окисленных форм белков определяли методом Вестерн-блот с помощью антител к карбонильным группам. Холинергический фенотип и окислительное повреждение нуклеиновых кислот в клетках MS+DBB – с помощью иммуногистохимического окрашивания на холин-ацетилтрансферазу (ХАТ) и 8-гидроксигуанозин (8-ОН-G).

В ходе проверки функции рабочей памяти животные группы ОБ демонстрировали повышенный процент ошибок по сравнению с контрольной группой, что подтверждалось статистическим анализом (RM-ANOVA, df=1, F=42.3, p=0.000).

Содержание окисленных форм белков в ГК мышей через 7 и через 30 сут. после ОБ было статистически значимо выше, чем в группе ИК (p=0.005 и p=0.03 соответственно). В MS и коре головного мозга статистически значимые различия наблюдались между ИК и ОБ животными через 7 дней после операции (p=0.03 и p=0.014 соответственно).

При оценке окислительного повреждения нуклеиновых кислот через 30 сут. после ОБв клетках MS+DBB определяли интенсивность окрашивания на 8-OH-G в экспрессирующих и не экспрессирующих ХАТ клетках. Было выявлено статистически значимое увеличение интенсивности в холинергических клетках группы ОБ по сравнению с ЛО животными.

Полученные данные позволяют предположить, что окислительный стресс вносит вклад в развитие сопутствующей ОБ холинергической гиподисфункции, и его механизмы являются перспективной мишенью для дальнейшего изучения данной экспериментальной патологии.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-015-00226.

#### Список цитируемой литературы

1. Bobkova N.V., Garbuz D.G., Nesterova I., Medvinskaya N., Samokhin A., Alexandrova I., Yashin V., Karpov V., Kukharsky M.S., Ninkina N.N., Smirnov A.A., Nudler E., Evgen'ev M. Therapeutic effect of exogenous hsp70 in mouse models of Alzheimer's disease // J. Alzheimers. Dis. 2014. V. 38. P. 425–435.
2. Radi, E., Formichi, P., Battisti, C., Federico, A. Apoptosis and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases // Journal of Alzheimer's Disease. 2014. V. 42. P. 125–152.

# ИЗМЕНЕНИЕ ОРИЕНТАЦИОННОЙ СЕЛЕКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ПЯТОГО СЛОЯ ПЕРВИЧНОЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ С ПОМОЩЬЮ СОЧЕТАННОЙ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Смирнов И. В. Малышев А. Ю.

*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН*

*e-mail: [ivan.vas.smirnov@gmail.com](mailto:ivan.vas.smirnov@gmail.com)*

В современной нейробиологии синаптическая пластичность часто рассматривается как основной клеточный механизм, лежащий в основе обучения и памяти. Большая часть существующих на сегодняшний день работ, посвященных синаптической пластичности, были выполнены на достаточно простых моделях *in vitro*, таких, как переживающие срезы мозга или нейрональные культуры. В данной работе с использованием оптогенетических методов мы предприняли первые шаги по изучению роли клеточных механизмов синаптической пластичности в функционировании нейронных сетей в целом мозге *in vivo*.

Работа была выполнена на первичной зрительной коре трансгенных мышей, у которых под промотором *Thy* экспрессировался ген светоактивируемого белка ChR2. Для оценки состояния синаптических входов исследуемых клеток мы предъявляли животному зрительные стимулы в виде движущихся на мониторе светлых полос различной ориентации. Характерной особенностью нейронов первичной зрительной коры является ориентационная селективность, заключающаяся в генерации потенциалов действия только в ответ на предъявление зрительных стимулов оптимальной ориентации.

В ходе исследования мы проводили оптогенетическую стимуляцию нейронов 5-го слоя первичной зрительной коры, экспрессирующих ChR2, в сочетании с предъявлением зрительных стимулов. Регистрация нейронов производилась методом юкстраклеточной регистрации. Оптогенетическая стимуляция осуществлялась с помощью синего светодиода через оптоволокно, помещенное в микроэлектрод.

В течении первых 10 минут регистрации производилось определение оптимальной ориентации для регистрируемого нейрона, после чего выполнялась оптогенетическая стимуляция, сочетанная с предъявлением зрительного стимула с неоптимальной ориентацией. Всего, для каждого нейрона, производилось от 100 до 200 таких сочетаний, после чего, производилось повторное определение оптимальной ориентации в течении, по крайней мере, 40 минут после сочетанной стимуляции.

Мы обнаружили, что подобная сочетанная стимуляция приводит к увеличению ответа на стимул неоптимальной ориентации, который был сочетан с оптогенетической стимуляцией и уменьшению ответа на стимул оптимальной ориентации. Данные изменения сохранялись, по крайней мере, более одного часа после сочетанной стимуляции.

Таким образом, мы показали, что с использованием данной модели возможно изучение механизмов пластических модификаций синаптических входов одиночного нейрона в неокортексе взрослого животного *in vivo*.

## АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ мРНК ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕМ, ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ДЕКСАМЕТАЗОНА В ГИППОКАМП КРЫСЫ

Третьякова Л.В., Квичанский А.А.

*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва*

*e-mail: kind.dr.lee@gmail.com*

В ряде работ показано, что хроническое повышение концентрации глюкокортикостероидов в крови приводит к развитию нейровоспаления в гиппокампе. При этом про- и противовоспалительные функции глюкокортикоидов непосредственно в ткани мозга остаются недостаточно изученными. Исследование непосредственного влияния глюкокортикоидов на нейровоспаление принципиально важно для понимания механизмов повреждения гиппокампа, лежащих в основе развития когнитивных и психических расстройств. В данной работе мы изучали влияние локального введения глюкокортикостероида дексаметазона, агониста глюкокортикоидных рецепторов, на развитие острого нейровоспаления в гиппокампе крысы.

Вещества вводили стереотаксически в левый дорсальный гиппокамп (AP=-3.5мм, L=-2.0мм, H=-3.5мм) взрослых самцов крыс линии Wistar (300-350 г). Нейровоспаление индуцировали при помощи стереотаксической инъекции раствора ЛПС (0.2мкг/1мкл). Дексаметазон вводили в фосфатно-солевом буфере (PBS) (50нг/1 мкл). В эксперименте было 5 групп по 8 животных в каждой: (1) ЛПС+PBS; (2) дексаметазон+PBS; (3) ЛПС+дексаметазон+PBS; (4) PBS; (5) интактные животные.

Поскольку нейровоспаление в гиппокампе может сопровождать депрессивноподобное поведение, проводили тест предпочтения сахарозы (ангедония). За два дня до операции и в последующие дни крысам предоставляли выбор между поилками с водой и 1% раствором сахарозы в воде *ad libitum* и регистрировали количество потребленной воды и раствора сахарозы.

На 3-и сутки после инъекции крысы были анестезированы 10% раствором хлоралгидрата, а затем подвергнуты транскардиальной перфузии физиологическим раствором NaCl (0,9%). Образцы дорсального (ДГ) и вентрального (ВГ) гиппокампов были выделены из левого полушария и заморожены в жидком азоте. Тотальную РНК из образцов использовали для исследования экспрессии генов цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$  и Tgfb1, хемокинов Ccl2 и фракталкина (Cx3cl1), маркеров микроглии Cx3cr1 (рецептор фракталкина) и Ncf1 методом ПЦР «в реальном времени».

Показано, что в ДГ экспрессия мРНК ИЛ-1 $\beta$ , Ccl2и Ncf1повышается у групп животных ЛПС+PBSи ЛПС+дексаметазон+PBS, по сравнению с группой PBS. Уровень экспрессии ФНО $\alpha$  повышался только в группе ЛПС+дексаметазон+PBS по сравнению с группой PBS. Также было показано, что в ДГ контрольной группы (PBS) увеличен уровень экспрессии мРНКCcl2по сравнению с группой интактного контроля, что, по-видимому, отражало влияние операционной процедуры. Изменений экспрессии мРНКфракталкинаCx3cl1и его рецептора Cx3cr1, а также Tgfb1 в ДГ выявлено не было. В ВГ не было обнаружено изменений относительной представленности мРНК ни одного из генов интереса. В группе ЛПС+дексаметазон+PBS по сравнению с группой PBSбыло выявлено достоверное снижение потребления сахарозы на 2-й и 3-й дни после инъекции.

Таким образом, в данной модели не было выявлено самостоятельной про- и противовоспалительной активности дексаметазона. Тем не менее, дексаметазон потенцировалэкспрессию мРНК провоспалительного цитокина ФНО $\alpha$  при остром нейровоспалении, вызванном ЛПС. Поскольку именно в группе ЛПС+дексаметазон+PBS отмечено развитие депрессивноподобного поведения(ангедонии при потреблении сахарозы), можно предположить, что активация глюкокортикоидного рецептора дексаметазоном в ДГ, модулируя процесс нейровоспаления, вызывает изменения эмоциональной сферы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90081.



# МОДЕЛЬ АСИНХРОННОГО ВЫБРОСА ГАМК В СИНАПСЕ, ОБРАЗОВАННОМ ССК/СВ1<sup>+</sup> ИНТЕРНЕЙРОНОМ НА ПИРАМИДНОМ НЕЙРОНЕ В ПОЛЕ CA1 ГИППОКАМПА

Шайдуров В.А. Вазетдинова А.

*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва*

*e-mail:*

Асинхронный выброс (АВ) нейромедиатора является специфическим свойством как некоторых синапсов в ЦНС так и нервно-мышечных соединений. В ЦНС асинхронный выброс наиболее ярко выражен в тормозных синапсах, сформированных холецистокинин-положительными интернейронами на пирамидных клетках гиппокампа. Традиционно считается, что выраженность асинхронного выброса существенно определяется динамикой концентрации  $Ca^{2+}$  в пресинаптической терминали. Эта динамика, в свою очередь зависит от буферных свойств пресинапса и кинетики удаления  $Ca^{2+}$  из терминали. Устранение  $Ca^{2+}$  из пресинапса определяется активностью  $Ca^{2+}$  насоса плазматической мембраны (PMCA) и активностью натрий-кальциевого обменника (NCX). В описанных выше синапсах практически полностью отсутствует PMCA-зависимая компонента регуляции концентрации  $Ca^{2+}$  внутри терминали (Rakhmatullina et al., 2018). Таким образом, динамика  $Ca^{2+}$  во многом определяется кинетикой NCX. Основываясь на этом наблюдении, мы предлагаем модель асинхронного выброса, совмещающую в себе динамику концентраций  $Na^{+}$  и  $Ca^{2+}$  с динамикой выброса синаптических везикул из аксонального бутона, основанную на кинетических характеристиках NCX (Weber et al. 2001) и классической модели везикулярного выброса (Lou et al. 2005). В этой модели остаётся ряд свободных параметров, таких например, как плотность NCX, скорость удаления  $Na^{+}$  из терминали, константы реакций везикулярного аппарата и др. Основываясь на результатах экспериментов патч-кламп регистрации связанных холецистокинин-положительных нейронов и пирамидных нейронов, в которых производилась блокада потенциал-зависимых кальциевых каналов, а также менялась динамика концентрации  $Ca^{2+}$  в пресинаптической терминали с помощью EGTA, нам удалось выделить область в этом пространстве параметров, согласующуюся с результатами всех экспериментов. Поскольку в этой области совмещена информация обо всех проделанных экспериментах, исследование поведения модели с параметрами из этой области при различных внешних условиях (например изменении концентрации  $Na^{+}$ ,  $Ca^{2+}$  снаружи клетки) и протоколах стимуляции, позволяет сделать предсказания о динамике асинхронного выброса в этих условиях следующие из совмещения модели с проделанными экспериментами.

## Список цитируемой литературы

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

2. Weber CR, Ginsburg KS, Philipson KD, Shannon TR, Bers DM. Allosteric regulation of Na/Ca exchange current by cytosolic Ca in intact cardiac myocytes. *J Gen Physiol* 117: 119–131, 2001
3. Lou X, Scheuss V, Schneggenburger R. Allosteric modulation of the presynaptic Ca<sup>2+</sup> sensor for vesicle fusion. *Nature*. 2005;435:497–501.

*Гости ИВНД и НФ РАН*

РАЗРАБОТКА ПЛАГИНА ДЛЯ ВЫСОКОУРОВНЕВОГО АНАЛИЗА НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ, ЗАРЕГИСТРИРОВАННОЙ ВО ВРЕМЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИНИСКОПА

Ерофеев А.И.<sup>1</sup>, Герасимов Е.И.<sup>1</sup>, Пушкарева С.А.<sup>1</sup>, Баринов Д.С.<sup>2</sup>, Болсуновская М.В.<sup>2</sup>, Ян Сянью<sup>3</sup>, Ян Хаю<sup>3</sup>, Чжоу Чэнбинь<sup>3</sup>, Власова О.Л.<sup>1</sup>, Ли Уейдонг<sup>3</sup>, Безпрозванный И.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория молекулярной нейродегенерации Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Лаборатория «Промышленные системы потоковой обработки данных» Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Отделение физиологии юго-западного медицинского центра Техасского университета, Даллас, США

<sup>4</sup>Основная лаборатория генетики развития и психоневрологических расстройств, Шанхайский университет Цзяо Тонг, Шанхай, Китай

e-mail: [alexander.erofeew@gmail.com](mailto:alexander.erofeew@gmail.com) / [dmitriy.barinov@spbpu.com](mailto:dmitriy.barinov@spbpu.com)

Миниатюрный флуоресцентный микроскоп (минископ) является перспективным средством визуализации активности нейронов [1]. Использование минископа позволяет получать изображения ранее недоступных популяций нейронов в глубине мозга свободно движущихся животных. Тем не менее, обработка первичных данных, полученных с помощью минископа, имеет ряд трудностей: экстракция нейронной активности и ее последующий анализ, в том числе высокоуровневый.

В связи с тем, что в открытых источниках не удалось найти инструмент, позволяющий провести высокоуровневый анализ нейронной активности [2], было предложено разработать собственный программный модуль, объединяющий возможности первичной обработки видеозаписи с использованием алгоритмов CNMF\_E [3], процедуру регистрации нейронов для нескольких экспериментов с использованием алгоритма CellReg [4], а также высокоуровневый анализ изменений нейронной активности от эксперимента к эксперименту.

В качестве платформы для разработки была выбрана среда MATLAB (MathWorks), позволяющая с одной стороны, легко объединить алгоритмы и реализации других исследователей, а с другой – использовать разработанный инструмент и его исходный код для дальнейших модификаций. На данный момент разработана версия программного модуля, позволяющая импортировать данные обработки видеопоследовательности одного эксперимента, проводить корреляционный анализ и представлять результат в графическом виде. Графический интерфейс программного модуля содержит несколько виджетов (рис. 1). Виджет слева иллюстрирует активность нейронов для выбранного кадра единичной видеопоследовательности. Для идентификации нейронов, каждому из них присваивается уникальный индекс. Виджет справа иллюстрирует тепловую карту корреляции активности

нейронов. Внизу графического интерфейса расположены: инструмент выбора диапазона кадров для расчета корреляционной зависимости, позволяющий выбирать кадры из несколько экспериментов, и инструмент выбора кадра в видеозаписи для отображения.

Показатель корреляционной зависимости нейрона  $i$  от нейрона  $j$ , вычисляется  $corr(i, j) = N_{act_{i,j}}/N_{act_i}$ , где  $N_{act_{i,j}}$  - количество кадров видео последовательности, для которых активности нейронов  $i$  и  $j$  превышают некоторое пороговое значение, а  $N_{act_i}$  - количество кадров, для которых активность нейрона  $i$  превышала некоторое пороговое значение. Пример проанализированных данных представлен на рисунке 2.

Следующим шагом в разработке плагина планируется добавить реализацию вычисления изменений в корреляционной зависимости между сериями экспериментов и доработать программный модуль до конечного программного продукта. Впоследствии с его помощью исследователи смогут получать новые сведения о нейронной активности в целом, а также о взаимодействии нейронов между собой.

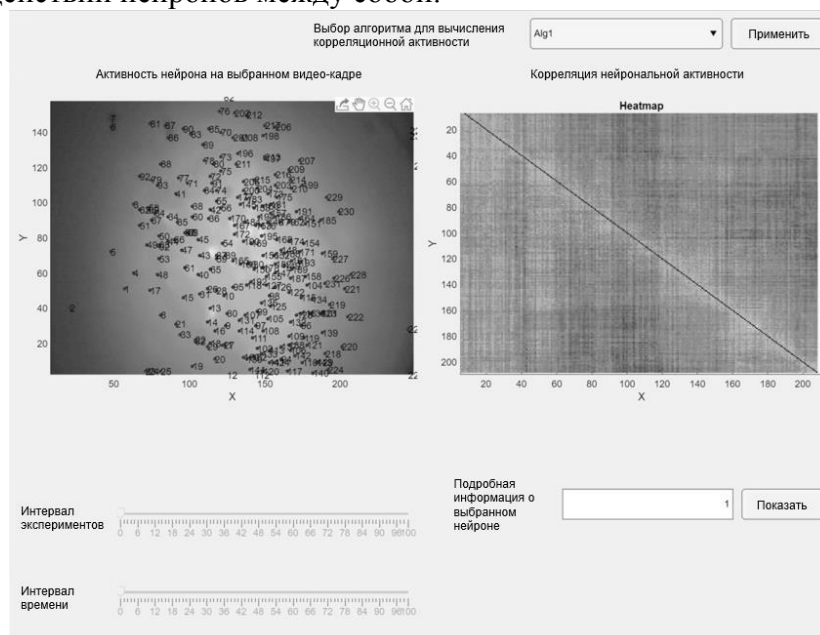


Рис. 1. Графический интерфейс прототипа плагина: слева - активность нейронов для выбранного кадра единичной видеопоследовательности, справа - тепловая карта корреляции активности нейронов, внизу слева - инструмент выбора диапазона кадров и инструмент выбора кадра в видеозаписи, внизу справа – выбор индекса конкретного нейрона.

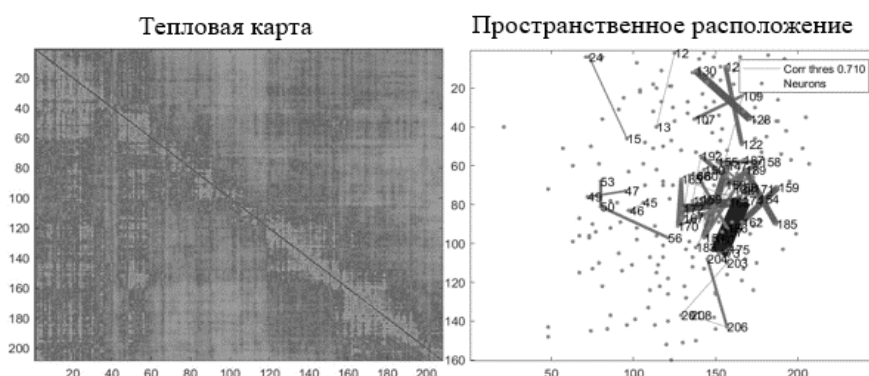


Рис. 2. Корреляция активности нейронов для серии из трех экспериментов. Слева - тепловая карта корреляции активности нейронов, по осям  $x$  и  $y$  представлены индексы нейронов. Индекс нейрона - порядок его обнаружения в процессе анализа видеопоследовательности. Чаще всего нейроны, имеющие смежные индексы, физически расположены близко друг к другу. Справа - пространственное расположение наиболее активных пар нейронов.

Работа выполнена при поддержке субсидии на реализацию проектов Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого в рамках Программы повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров (Проект 5-100-2020) на 2020 г и при поддержке гранта РФФИ 19-15-00184 (И.Б. Безпрозванный).

#### Список литературы

1. B.A. Flusberg, A. Nimmerjahn, E.D. Cocker, *et al. Nature Methods* 5, 935–938, (2008).
2. C. Blanco-Centurion, S. Luo, D.J. Spergel, *et al. Journal of Neuroscience* 39, 4986-4998, (2019).
3. P. Zhou, S.L. Resendez, J. Rodriguez-Romaguera, *et al. Elife* 7, (2018).
4. L. Sheintuch, A. Rubin, N. Brande-Eilat, *et al. Cell Reports* 21, 1102-1115, (2017).

# ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВАЦИЯ SK КАНАЛОВ УЛУЧШАЕТ СИМПТОМЫ АТАКСИИ НА МЫШАХ-МОДЕЛЯХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЛИГЛУТАМИНОВОГО ТРАКТА.

Егорова П.А.<sup>1</sup>, Гаврилова А.В.<sup>1</sup>, Безпрозванный И.Б.<sup>1,2</sup>

*1 Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия;*

*2 Юго-западный медицинский центр университета Техаса, Даллас, Техас, США*

*e-mail: bio\_polya@mail.ru*

Проводящие пути мозжечка играют ключевую роль в контроле моторной активности и координации движений. Строгая синхронизация информации, выходящей из мозжечка, обеспечивает точность движений и контролирует их скорость. Клетки Пуркинье (КП) представляют собой главный динамический элемент коры мозжечка, поскольку именно их аксоны формируют единственный путь передачи информации от коры мозжечка к глубинным структурам мозга. Поражение КП наблюдается в случае различных заболеваний, связанных с нарушениями координации движения и атаксическим фенотипом. Во время терминальных стадий заболевания атаксией наблюдается практически полная потеря КП. Однако исследования на мышинных моделях различных типов атаксий показали, что на ранних этапах развития заболевания, ещё до начала морфологических изменений клеток мозжечка, наблюдаются нарушения генерации импульсной активности КП [1]. Нарушения пейсмейкерной активности КП были обнаружены в исследованиях на трансгенных мышях-моделях спиноцеребеллярной атаксии (СЦА) 1-го, 2-го, 3-го и 6-го типов [2-5], а также на других моделях нейродегенеративных заболеваний (НДЗ) с атаксическим фенотипом [6, 7]. Известно, что пейсмейкерная активность КП контролируется кальций-активируемыми калиевыми каналами малой проводимости (SK каналами). Фармакологическая активация кальций-активируемых калиевых каналов имела некоторый терапевтический эффект в случае мышей-моделей атаксии [4, 6, 8, 9].

Целью настоящей работы было проанализировать влияние активации SK каналов молекулами хлорзоксазона (CHZ) на электрофизиологические свойства КП мозжечка мышей-моделей СЦА2 и болезни Хантингтона (БХ). Для достижения поставленной цели были использованы мыши трансгенных линий SCA2-58Q и YAC128. В настоящей работе был использован метод внеклеточной регистрации импульсной активности от одиночного отведения КП на анестезированных уретаном мышях-моделях БХ [10] и на бодрствующих мышях-моделях СЦА2 [11]. В случае бодрствующих мышей фиксация животного осуществлялась с помощью парящей платформы Mobile HomeCage (Neurotar, Финляндия).

В соответствии с результатами наших предыдущих экспериментов на срезах мозжечка СЦА2 мышей [3, 8], в настоящих экспериментах мы наблюдали статистически значимое понижение частоты генерации импульсной активности КП в СЦА2 мышях, начиная с возраста 9 мес. В случае БХ мышей в соответствии с предыдущими результатами, полученными также на срезах мозжечка [7], наблюдалось подобное уменьшение частоты простых спайков КП. Мы также выявили значительное увеличение коэффициента вариации межимпульсного интервала в случае СЦА2 и БХ КП, начиная с возраста 9 мес. Подобное нарушение точности генерации импульсной активности КП мы наблюдали ранее в мышях линии SCA2-58Q при проведении экспериментов на срезах мозжечка [3, 8], а также – в

случае анестезированных уретаном СЦА2 мышей [9]. Патологическое понижение регулярности активности также сообщалось ранее в случае мышей-моделей эпизодической атаксии 2-го типа [12], СЦА6 [5] и некоторых других мышей с атаксическим фенотипом.

Далее с целью оценки влияния систематической активации SK каналов на электрофизиологические свойства КП, нами были проведены длительные внутрибрюшинные (в.б.) инъекции 30 мг/кг CHZ. Долговременная администрация CHZ не повлияла на генерацию простых спайков КП в случае СЦА2 мышей, однако она восстановила регулярность активности КП в случае данных мышей. В случае БХ мышей долговременные в.б. инъекции восстанавливали частоту генерации импульсной активности КП, а также возобновляли точность электрофизиологической активности КП. Методом «прогулка по перекладине» нами были продемонстрированы значительные улучшения моторной активности мышей-моделей СЦА2 и БХ во время проведения долговременного курса инъекций CHZ.

В результате настоящей работы нами было показано, что потеря регулярности импульсной активности КП коры мозжечка может быть ключевой причиной прогрессии симптомов атаксии в случае различных типов СЦА и других НДЗ, связанных с атрофией мозжечка. Мы предполагаем, что активация кальций-активируемых калиевых каналов, включающих SK каналы, может быть использована в качестве потенциального способа лечения на физиологическом уровне СЦА и других НДЗ, связанных с атрофией мозжечка.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 19-15-00184.

Список цитируемой литературы.

1. Egorova PA, Bezprozvanny IB. Molecular Mechanisms and Therapeutics for Spinocerebellar Ataxia Type 2. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2019.
2. Dell'Orco JM, Wasserman AH, Chopra R, et. al. Neuronal Atrophy Early in Degenerative Ataxia Is a Compensatory Mechanism to Regulate Membrane Excitability. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2015;35(32):11292-307.
3. Kasumu AW, Liang X, Egorova P, et. al. Chronic suppression of inositol 1,4,5-triphosphate receptor-mediated calcium signaling in cerebellar purkinje cells alleviates pathological phenotype in spinocerebellar ataxia 2 mice. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012;32(37):12786-96.
4. Shakkottai VG, do Carmo Costa M, Dell'Orco JM, et. al. Early changes in cerebellar physiology accompany motor dysfunction in the polyglutamine disease spinocerebellar ataxia type 3. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2011;31(36):13002-14.
5. Mark MD, Krause M, Boele HJ, et al. Spinocerebellar ataxia type 6 protein aggregates cause deficits in motor learning and cerebellar plasticity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2015;35(23):8882-95.
6. Walter JT, Alvina K, Womack MD, et. al. Decreases in the precision of Purkinje cell pacemaking cause cerebellar dysfunction and ataxia. *Nature neuroscience*. 2006;9(3):389-97.

7. Dougherty SE, Reeves JL, Lesort M, et. al. Purkinje cell dysfunction and loss in a knock-in mouse model of Huntington disease. *Experimental neurology*. 2013;240:96-102.
8. Kasumu AW, Hougaard C, Rode F, et al. Selective positive modulator of calcium-activated potassium channels exerts beneficial effects in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 2. *Chem Biol*. 2012;19(10):1340-53.
9. Egorova PA, Zakharova OA, Vlasova OL, et. al. In vivo analysis of cerebellar Purkinje cell activity in SCA2 transgenic mouse model. *Journal of neurophysiology*. 2016;115(6):2840-51.
10. Egorova PA, Gavrilova AV, Bezprozvanny IB. Ataxic Symptoms in Huntington's Disease Transgenic Mouse Model Are Alleviated by Chlorzoxazone. *Frontiers in neuroscience*. 2020;14:279.
11. Egorova P.A. Gavrilova AV, Bezprozvanny I.B. In vivo analysis of the spontaneous firing of cerebellar Purkinje cells in awake SCA2-58Q mice. In preparation (*Cell Calcium*). 2020.
12. Alvina K, Khodakhah K. The therapeutic mode of action of 4-aminopyridine in cerebellar ataxia. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2010;30(21):7258-68.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУПРИНУДИТЕЛЬНОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ У КРЫС-  
ГЕТЕРОЗИГОТ ПО НОКАУТУ ГЕНА ДОФАМИНОВОГО ТРАСПОРТЁРА (DAT):  
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ.

Антонова И.В.<sup>1,2</sup>, Веракса А.Е.<sup>1</sup>

*1 - Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44.*

*2 - Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9.*

*Email: [rish.alina999@mail.ru](mailto:rish.alina999@mail.ru)*

Известно, что крысы-гетерозиготы по нокауту дофаминавого транспортера (DAT-НЕТ) имеют ряд поведенческих особенностей, таких как усиленная двигательная и исследовательская активность вместе с повышенной тревожностью.<sup>1</sup> Несмотря на то, что особенности модели DAT- НЕТ недостаточно хорошо исследованы, она может подходить изучения синдрома дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ).<sup>2</sup> Предпочтение алкоголя нередко связывают с различными тревожными расстройствами, такими как ОКР, тревожно-депрессивное расстройство и пр.<sup>3</sup> Наряду с этим, СДВГ, и, связанный с ним дофаминергический дефицит в раннем возрасте так же может является причиной злоупотребления алкоголем и ПАВ.<sup>4</sup> В данном эксперименте впервые исследуется модель крыс DAT-НЕТ с последующим влиянием полупринудительной алкоголизации, что может помочь в дальнейшем более детально изучить возникновение злоупотребление алкоголем у лиц с СДВГ и алкоголизма у лиц с тревожными расстройствами.

Исследование проводили на трех группах крыс. Первая группа включала 11 крыс самцов линии DATНЕТ, контрольные вторая и третья группа включали 12 и 9 крыс самцов линии Wistar. Возраст крыс на начало эксперимента – 2 месяца. Поведенческие особенности оценивались в тестах «Открытое поле», «Крестообразный приподнятый лабиринт», тест «Реакция на звуковой сигнал». Уровень предпочтения алкоголя оценивался в тесте «Двустаканная проба», который проводили в течении 10 минут каждый месяц, и в течение суток, который проводился каждые три недели. После контрольных тестирований, группы были подразделены на три: DAT-НЕТ\_СПИРТ- крысы нокаутной линии, употребляющие спирт, WISTAR\_СПИРТ – крысы контрольной линии, употребляющие спирт, WISTAR\_ВОДА - крысы контрольной линии, пьющие воду. Начиная с возраста 2,5 месяцев в течение 11 недель животные групп DAT-НЕТ\_СПИРТ и WISTAR\_СПИРТ получали 15% раствор этилового спирта в качестве жидкости для питья в режиме: понедельник, среда, пятница – доступ только к раствору этанола, вторник, четверг – питьевая депривация, суббота, воскресенье – доступ только к воде. Животные группы WISTAR\_ВОДА на протяжении всего эксперимента в аналогичном режиме получали воду. Поведенческие тесты проводились в начале эксперимента и каждые 4 недели после начала полупринудительной алкоголизации.



По результатам контрольного теста «Открытое поле» крысы DAT-НЕТ продемонстрировали высокий уровень двигательной, исследовательской активности и повышенный уровень тревожности, что соответствует модели СДВГ и тревожных расстройств. В последующих тестах, в процессе алкоголизации эти показатели стойко снижались. В тесте «Приподнятый-крестообразный лабиринт» крысы DAT-НЕТ также показывают высокий уровень тревожности, выявленный в большом количестве времени, проведенном в закрытых рукавах лабиринта. После 11 недель алкоголизации время, проведенное в открытых рукавах лабиринта, существенно снижался, что свидетельствует о редукции тревожности. Однако в тесте «Реакция на звуковой сигнал» у крыс DAT-НЕТ стойко проявляется яркая двигательная реакция на последний из пяти сигналов, что может говорить о сохраняющейся повышенной возбудимости.

В тесте «Двустаканная проба», в том числе суточном тесте потребления алкоголя, крысы DAT-НЕТ вначале не демонстрируют явного предпочтения спирта, однако к концу алкоголизации доля выпитого спирта в тесте «Двустаканная проба» выше, чем у других контрольных групп. В суточной Двустаканной пробе также наблюдается рост выпитого спирта по отношению к воде в течении всех тестов.

Таким образом, крыс DAT-НЕТ могут быть использованы в качестве модели тревожных расстройств. Формирование предпочтения алкоголя у DAT-НЕТ, скорее всего, происходит по механизму self-medication в силу его анксиолитического действия у данной категории животных.

Список литературы:

1. А. Р. Гайнетдинов, З.С. Фасенко, З.Р. Хисматуллина. Поведенческие изменения у крыс-гетерозигот по нокауту гена дофаминового транспортера DAT. *Биомедицина*. 2020; 16(1):82-88
2. Cinque S., Zoratto F., Poleggi A., et al. Behavioral Phenotyping of Dopamine Transporter Knockout Rats: Compulsive Traits, Motor Stereotypies, and Anhedonia. *Frontiers in Psychiatry*. 2018;9:43.
3. Andersen S.L., Greene-Colozzi E.A., Sonntag K.C. A novel, multiple symptom model of obsessive-compulsive-like behaviors in animals. *Biol. Psychiatry*. 2010; 68(8): 741–747.
4. Полунина А.Г., Давыдов Д.М., Брюн Е.А. Синдром дефицита внимания с гиперактивностью и антисоциальное поведение у детей: неврологические аспекты. *Русский журнал детской неврологии*. 2006; 2(1): 22-30.

# ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ АСТРОЦИТОВ ОБЛЕГЧАЕТ ИНДУКЦИЮ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПОТЕНЦИАЦИИ СИНАПСОВ

Богданов А.О.<sup>1</sup>, Сербина А.В.<sup>1</sup>, Панкратов Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Балтийский Федеральный Университет имени И. Канта, Институт живых систем, Калининград, Российская Федерация

<sup>2</sup>University of Warwick, School of Life Sciences, Coventry, United Kingdom

*e-mail: AxBogdanov@gmail.com*

Учитывая, насколько значительную роль в реализации нормальных функций мозга и при развитии патологий ЦНС играют астроциты [1, 2, 3], их можно рассматривать в качестве мишеней для разработки новых методов терапии нейродегенеративных заболеваний и борьбы с возрастным снижением интеллектуальных способностей. Одним из перспективных направлений развития новых, нацеленных на глию, терапевтических подходов может быть воздействие на  $Ca^{2+}$ -сигнализацию астроцитов. В частности, препараты, которые влияют на уровень норадреналина в головном мозге могут быть использованы для манипуляции активностью астроцитов. Норадреналин даже в низкой концентрации (0.2-0.5 мкМ) способен активировать  $Ca^{2+}$ -сигнализацию в астроцитах путем стимуляции высокочувствительных  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -адренорецепторов [4, 5]. В данном исследовании мы вводили крысам малые дозы селективного ингибитора обратного захвата норадреналина, чтобы оценить, каким образом препарат будет влиять на астроглиальную кальциевую сигнализацию, поведение животных, синаптическую передачу и пластичность в коре головного мозга.

Крысам Wistar в течение 14 дней 1 раз в день перорально вводили препарат атомоксетин в дозировке 0.15 мг/кг массы тела. Препарат подмешивали во фруктовое пюре, которое служило лакомством, и крысы добровольно его съедали. Для оценки активности  $Ca^{2+}$ -сигнализации в астроцитах был использован метод флуоресцентной визуализации концентрации ионов  $[Ca^{2+}]_i$  с применением конфокального микроскопа. Чтобы исследовать синаптическую передачу нейронов соматосенсорной коры головного мозга мы с помощью технологии пэтч-кламп регистрировали миниатюрные ингибирующие постсинаптические токи (МИПСТ). Оценку способности синапсов к индукции долговременной потенциации (ДВП) проводили путем регистрации полевых возбуждающих постсинаптических потенциалов (пВПСП) в 3 слое соматосенсорной коры. ДВП синапсов индуцировали при помощи 30 высокочастотных электрических стимулов. Влияние препарата на поведение и когнитивные способности животных изучали с применением теста «открытое поле» и «лабиринт К. Барнс».

По результатам исследования  $Ca^{2+}$ -сигнализации оказалось, что у животных, которым вводили препарат мощность  $Ca^{2+}$ -транзиентов в астроцитах соматосенсорной коры значительно выше ( $p < 0.05$ ), чем в астроцитах контрольной группы (Рис. 1). При этом препарат не оказывал существенного влияния на частоту  $Ca^{2+}$ -транзиентов в соме и отростках астроцитов. Мы также обнаружили, что введение животным атомоксетина повлияло на тормозную синаптическую передачу в соматосенсорной коре. У животных, которым вводили препарат, по сравнению с группой контроля значительно снижена амплитуда МИПСТ, возникающих в результате активации ГАМКа-рецепторов ( $p < 0.01$ , тест Стьюдента). Кроме того частота ГАМКа МИПСТ у животных атомоксетиновой группы также оказалась ниже, чем в группе контроля ( $p < 0.05$ ).

## Исследование $Ca^{2+}$ -сигнализации в астроцитах

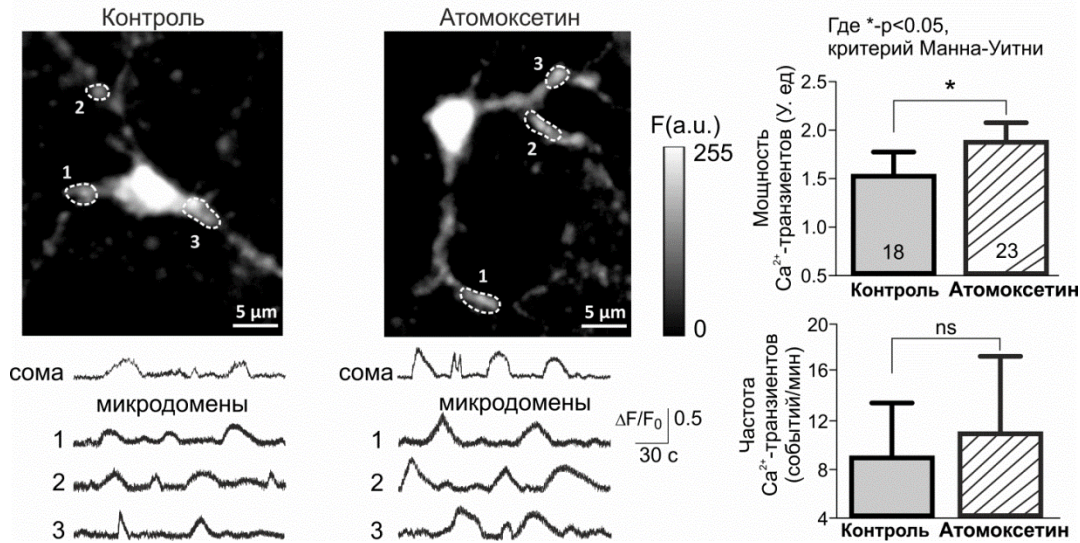


Рисунок 1. Малые дозы атомоксетина активируют  $Ca^{2+}$ -сигнализацию в астроцитах соматосенсорной коры головного мозга крыс. Данные представлены в виде  $M \pm SD$ . Мощность  $Ca^{2+}$ -транзиентов рассчитана с учетом их амплитуды и кинетических параметров по формуле: 
$$\text{Мощность (У. ед.)} = \frac{\left(\frac{\Delta F}{F_0}\right)_{ROI} \times Trise \times Tdecay}{(Trise + Tdecay)}$$

Полученные данные указывают на то, что активация астроглиальной  $Ca^{2+}$ -сигнализации и снижение эффективности тормозной синаптической передачи под действием атомоксетина вызвало облегчение индукции ДВП синапсов соматосенсорной коры в ответ на электрическую стимуляцию (Рис. 2).

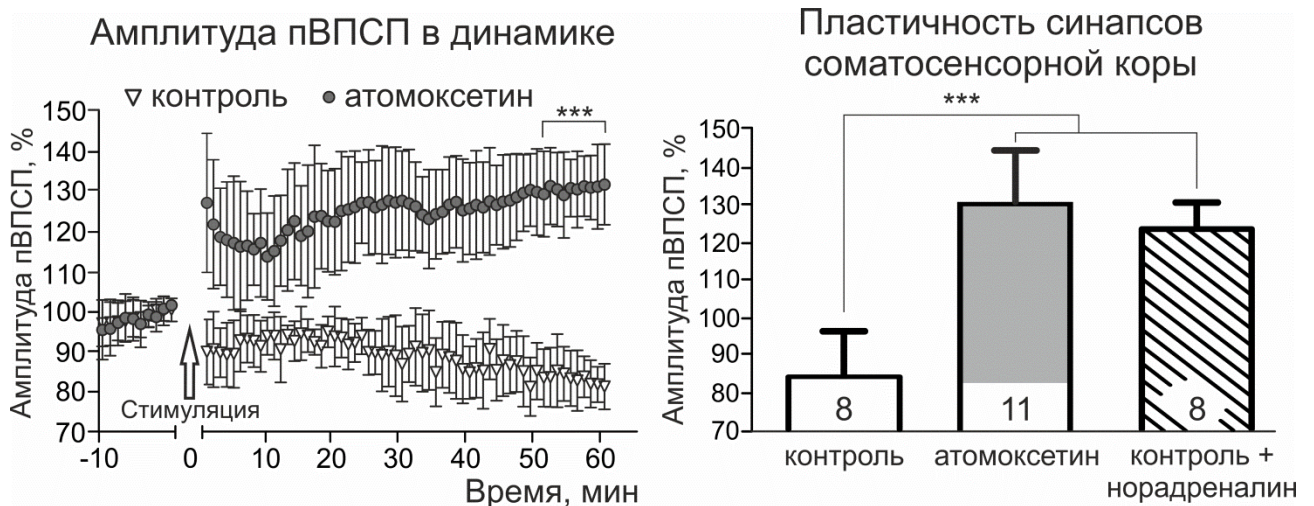


Рисунок 2. Курс атомоксетина облегчает индукцию долговременной потенциации синапсов соматосенсорной коры головного мозга крыс. Данные представлены в виде  $M \pm SD$ . Где \*\*\* -  $p < 0.001$ , дисперсионный анализ.

Так, в ответ на электрический стимул в коре головного мозга крыс контрольной группы происходила индукция долговременной депрессии синапсов на уровне 80% от базовой амплитуды пВПСП. В то время как у животных, которым вводили атомоксетин, аналогичный стимул индуцировал ДВП синапсов на уровне 130%. Аппликация экзогенного норадреналина (2 мкМ) на срезы мозга животных контрольной группы вызывала

аналогичное введению атомоксетина облегчение индукции ДВП синапсов (Рис. 2), что свидетельствует об общности механизмов их действия.

Введение крысам атомоксетина в малых дозировках отразилось на их поведении. По результатам тестирования в открытом поле у животных, которым вводили препарат, значительно увеличилась локомоторная активность ( $p < 0.05$ , критерий Манна-Уитни) и снизилась эмоциональная реакция на новую обстановку ( $p < 0.001$ ) по сравнению с контрольной группой. Мы также обнаружили, что крысы, которым вводили атомоксетин, демонстрировали признаки лучшей обучаемости ( $p < 0.05$ ) и пространственной памяти ( $p < 0.01$ ), чем животные контрольной группы.

Таким образом, курс атомоксетина в малых дозах обладает достаточной эффективностью для того, чтобы облегчить индукцию ДВП синапсов соматосенсорной коры. Согласно нашим результатам, облегчение индукции ДВП под действием атомоксетина наиболее вероятно возникает в результате смещения баланса синаптической передачи норадреналином в сторону возбуждения двумя путями: 1) за счет увеличения активности астроцитов и 2) в результате снижения эффективности ГАМКергических синапсов. Мы полагаем, что такое воздействие препарата на пластичность синапсов может быть напрямую связано с изменениями в поведении и улучшением когнитивных способностей животных.

#### Список цитируемой литературы

1. Verkhatsky A., Nedergaard M. Physiology of astroglia. // *Physiological reviews*. 2018. Vol. 98 (1). P. 239-389.
2. Matias I., Morgado J., Gomes F.C.A. Astrocyte heterogeneity: impact to brain aging and disease. // *Frontiers in aging neuroscience*. 2019. Vol. 11. P. 59.
3. Gorshkov K. et al. Astrocytes as targets for drug discovery. // *Drug discovery today*. 2018. Vol. 23 (3). P. 673-680.
4. Lalo U., Pankratov Y. Role for Astroglial  $\alpha$ 1-Adrenergic receptors in Glia-Neuron Communications and Aging-Related Metaplasticity in the Neocortex. // *Noradrenergic Signaling and Astroglia*. Academic Press. 2017. P. 81-102.
5. Gaidin S.G. et al. Activation of alpha-2 adrenergic receptors stimulates GABA release by astrocytes // *Glia*. – 2020. Vol. 68 (6). P. 1114-1130.

# МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА ХЛОРИДОМ ТРИМЕТИЛОЛОВА НА КРЫСАХ ЛИНИИ WISTAR

Бугаев-Макаровский Н.А.<sup>1</sup>, Першина Е.В.<sup>1</sup>

*1 Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия*

*e-mail: [bugaevmakarovskiy0.0@gmail.com](mailto:bugaevmakarovskiy0.0@gmail.com)*

В настоящее время для изучения нейродегенеративных заболеваний существует два принципиальных подхода: моделирование *in vitro* и *in vivo*. Моделирование *in vitro* больше подходит для исследования молекулярных механизмов, в то время как моделирование *in vivo* позволяет видеть картину в целом и, в том числе, оценить изменения когнитивных функций посредством поведенческих тестов. Наиболее распространённые модели для изучения нейродегенеративных болезней *in vivo*: генетические (нокаутные линии грызунов или модели с использованием патологических белков), и модели на основе нейротоксикантов. К последним относятся каинатная модель и ТМТ-модель [1]. ТМТ-модель основана на нейротоксическом действии хлорида триметилолова (ТМТ) и в известной степени предпочтительнее, поскольку нейротоксикант обладает возможностью проходить через ГЭБ и кумулятивным эффектом при введении в кровь подопытного животного [2].

В нашей работе мы использовали ТМТ-модель для изучения патологии ЦНС в ответ на повреждающее действие экзогенного нейротоксиканта. Самцам крыс линии Wistar (n=13) внутривентриально делалась однократная инъекция раствора хлорида триметилолова (ТМТ) из расчёта 7,5 мг/кг; животным контрольной группы в равном объёме внутривентриально вводился изотонический раствор 0,9% натрия хлорида. Нейротоксическое воздействие оценивалось как по снижению массы в первые 2-3 дня после инъекции (потеря составляла до 10% от массы тела за день), так и по общим нарушениям поведения: крысы были вялые, малоподвижные, при этом существенно повышался уровень агрессивности, у некоторых фиксировались произвольные сокращения передних и задних конечностей судорожного типа, а также произвольные жевательные движения. На 4-5 день после введения нейротоксиканта поведение подопытных животных частично восстанавливается и похоже на поведение грызунов контрольной группы, крысы в обеих группах проявляют аппетит и набирают массу тела (контрольные в весе не теряли всё время эксперимента). Отмеченные изменения в поведении согласуются с данными литературы [3,4].

Через 14 суток после инъекции с животными обеих групп проводились эксперименты для оценки изменений в поведении. Все поведенческие тесты с крысами были выполнены в АПК «Шелтер» («Нейроботикс», Россия), с видеофиксацией и обработкой видео с помощью ПО АПК «Шелтер», статистически данные обрабатывались с помощью программы «GraphPad Prism 5.0». В первую очередь оценивалось функциональное состояние. Животные в подопытной группе проявляли высокий уровень тревожности, что выразилось в учащении случаев вокализации, частом груминге, а также замирании при помещении в новые для них условия (камера АПК). При этом исследовательская активность у них была ниже по сравнению с таковой у животных контрольной группы (количество стоек на задние лапы существенно ниже, при этом общее перемещение по камере также меньше), такие грызуны чаще сидели в

одном углу камеры, не проявляя интереса к обстановке. Также были проведены тесты на предпочтение зоны: грызунов помещали в светлый отсек, из которого они могли свободно перемещаться в тёмный. Всего в аппарате они находились в течение 240 секунд, предпочтение зоны отмечалось по времени нахождения в светлом/тёмном отсеке. Необходимо отметить, что грызуны в контрольной группе проявляли интерес к светлomu отсеку и активно его исследовали, в то время как все крысы подопытной группы сразу после помещения их в АПК перемещались в тёмный отсек, который не покидали вплоть до окончания эксперимента, что также подтверждает повышение уровня тревожности и снижение исследовательской активности и косвенно свидетельствует о развитии нейродегенерации.

Проведённые в нашей лаборатории морфологические и молекулярно-биологические исследования [5,6,7] позволяют связать наблюдаемые изменения в поведении крыс с развитием нейровоспаления в областях гиппокампа и префронтальной коры, на фоне которого меняется уровень экспрессии генов метаболитных рецепторов глутамата. Примечательно, что гиппокамп более уязвим для нейротоксического действия ТМТ, чем префронтальная кора. Соответственно, нарушения когнитивных функций, которые выражены в существенном уменьшении исследовательской активности крыс, связаны в первую очередь с повреждениями гиппокампа и его связей с другими структурами мозга. Также важно отметить изменение уровня экспрессии метаболитных рецепторов глутамата III группы, что свидетельствует в пользу развития нейровоспаления в том числе из-за переизбытка глутамата, который, как известно, обладает эксайтотоксичностью. Поскольку поведенческие эксперименты выявили повышение тревожности, можно также предположить, что токсическая нейродегенерация сопровождается нарушениями в участках мозга, ответственными за эмоциональное поведение, в частности, в областях лобной коры и амигдале, с которыми тесно связан гиппокамп. Такие наблюдения согласуются с данными о течении нейродегенеративных заболеваний у людей, соответственно, ТМТ-модель нейродегенерации на самцах крыс линии Wistar является оптимальной для моделирования и изучения с её помощью нейродегенеративных болезней, например, болезни Альцгеймера, или же нейротоксических повреждений мозга.

#### Список цитируемой литературы

1. Kenny, P. J., Hoyer, D., Koob, G. F. (2018). Animal models of addiction and neuropsychiatric disorders and their role in drug discovery: honoring the legacy of Athina Markou. *Biol. Psych.*, 83(11), 940-946.
2. More, S. V., Kumar, H., Cho, D. Y. and others (2016). Toxin-induced experimental models of learning and memory impairment. *Int. J. of mol. Sci.*, 17(9), 1447.
3. Corvino, V., Marchese, E., Michetti, F. and others (2013). Neuroprotective strategies in hippocampal neurodegeneration induced by the neurotoxicant trimethyltin. *Neurochem. Res.*, 38(2), 240-253.
4. Geloso, M. C., Corvino, V., Michetti, F. (2011). Trimethyltin-induced hippocampal degeneration as a tool to investigate neurodegenerative processes. *Neurochem. Int.*, 58(7), 729-738.

5. Pershina, E. V., Mikheeva, I. B., Kamaltdinova, E. R., Arkhipov, V. I. (2019). Expression of mGlu receptor genes in the Hippocampus after intoxication with trimethyltin. *J. of Mol. Neurosci.*, 67(2), 258-264.
6. Pershina E. V., Bugaev-Makarovskiy N. A., Mikheeva I. B., Arkhipov V. I. Metabotropic glutamate receptors in the hippocampus and the prefrontal cortex in rats during neurodegeneration caused by trimethyltin chloride. ESN Mini Conference Molecular Mechanisms of Cognitive Impairment and Intellectual Disability, FENS 2020 Virtual Forum, Glasgow 11-15 July 2020.
7. Kamaltdinova E. R., Pershina E. V., Bugaev-Makarovskiy N. A., Arkhipov V. I. Different activation of IL-10 in the hippocampus and the prefrontal cortex during neurodegeneration caused by trimethyltin chloride. *J Mol Neurosci* (2020). <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01682-w> Published 15.08.20

# ВОЗДЕЙСТВИЕ ОСЛАБЛЕННОГО (ПУТЕМ ЭКРАНИРОВАНИЯ) МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ НА КОГНИТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ DROSOPHILA MELANOGASTER

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

*1 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена» Санкт-Петербург, Россия*

*2 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*e-mail: [Swetlana.gorohowa@yandex.ru](mailto:Swetlana.gorohowa@yandex.ru)*

Изучение этиологии и патогенеза социально-значимых болезней – одна из актуальных проблем медицины. Как при спорадических, так и семейных случаях происходят изменения экспрессии большого числа генов, в первую очередь контролирующих функции актинового цитоскелета. Использование животных моделей дает возможность изучать механизмы функциональных нарушений, лежащих в основе этих заболеваний, а также разрабатывать терапевтические подходы. Удобной моделью для исследования связи между организацией генома и архитектурой хромосом, реализуемой в когнитивных нарушениях, является дрозофила. В частности, линия agnostic, несущая мутацию по гену *limk1*. LIMK1 - ключевой фермент ремоделирования актина - участвует в клеточной сигнализации и узнает белки семейств рецепторов и ионных каналов. Мутация *agn<sup>ts3</sup>* локализована в пределах района 11В X-хромосомы дрозофилы, который содержит ген CG1848 для LIM-киназы 1. Данная мутация нарушает оборонительное ольфакторное обучение, а также обучение и память при условно-рефлекторном подавлении ухаживания у самцов.

На развитие заболеваний, помимо индивидуальных особенностей генома, ключевое влияние оказывают стрессорные факторы внешней среды. Особый тип стресса, воздействующего на организм — это магнитное поле (МП) разной частоты и напряженности. Обнаружены эффекты МП на различные системы организма, включая нервную [1]. Эффекты действия статических магнитных полей (СМП) на живые объекты многообразны и сложны. Они зависят как от параметров поля (напряженность, время воздействия), так и от конкретного биологического организма, органа и ткани [2].

На данный момент в науке отсутствует единый взгляд на физические принципы, лежащие в основе магниторецепции. Ключевым механизмом биологической активности МП, вероятно, является его влияние на процессы, протекающие по ион-радикальному механизму и связанные со спиновыми переходами, такие как магнитно-зависимый синтез АТФ и ДНК. Спин электрона является носителем магнитного момента, при этом действующее на него магнитное поле с частотой <100 МГц можно условно считать постоянным. Магнитно-полевые эффекты, однако, проявляются только в многоспиновых системах — таких, в которых имеются хотя бы два радикала или ион-радикала. Система с двумя неспаренными электронами может быть в двух спиновых состояниях — синглетном или триплетном (полный спин равен соответственно 0 или 1). Будучи химически тождественными, эти состояния сильно различаются по реакционной способности. Стабилизируя интермедиаты с определенными конфигурациями спинов, МП может существенно влиять на направление химических реакций [3].

Исследования в области изучения роли родительских геномов в экспрессии генов потомства показали необходимость учитывать материнский и отцовский эффект в построении прогностических моделей. В предварительных исследованиях показано, что характерная для



мутанта организация ядра закладывается на ранних этапах эмбриогенеза, совпадающих с формированием гетерохроматиновых районов хромосом. Согласно литературным данным, между вторым и третьим часом эмбрионального развития происходит смена программ развития с материнской на зиготическую, второй этап разрушения материнских мРНК происходит через 12 часов после оплодотворения.

Нами было предпринято изучение роли гена *limk1* в родительском эффекте при обучении и формировании памятного следа. При исследовании влияния ССМП на обучение и память у *Drosophila melanogaster* были использованы реципрокные гибриды Canton-S×*agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup>*×Canton-S; Berlin×*agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup>*×Berlin. Для получения реципрокных гибридов были использованы линии дикого типа Canton-S и Berlin, а также линия *agn<sup>ts3</sup>*, несущая температурно-чувствительную (*ts*) мутацию по гену *limk1*. Ранее мы выявили нарушения среднесрочной памяти при действии ССМП у линии дикого типа Canton-S [4]. Напротив, у мутанта *agn<sup>ts3</sup>* данное стрессорное воздействие приводит к восстановлению способности к обучению и формированию памяти [5]. Результаты изучения обучения и памяти у реципрокных гибридов показали, что формирование памятного следа демонстрирует патернное наследование.

#### Список цитируемой литературы.

- [1]. Thoss F., Bartsch B. The human visual threshold depends on direction and strength of a weak magnetic field. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.* 2003. V. 189. N. 10. P. 777-779
- [2]. Ghodbane S., Lahbib A., Ammari M., Sakly M., Abdelmelek H. Does static magnetic field-exposure induced oxidative stress and apoptosis in rat kidney and muscle? Effect of vitamin E and selenium supplementations. *Gen Physiol Biophys.* 2015. V. 34. N. 1. P. 23-32).
- [3]. А.Л. Бучаченко. Магнито-зависимые молекулярные и химические процессы в биохимии, генетике и медицине // *Успехи химии.* – № 1. – 2014. – Т.83. – С. 1–12.
- [4]. Васильева С.А. и др., Когнитивные нарушения у *Drosophila melanogaster*: влияние гена *limk1*. // 2018, Материалы Всероссийской молодежной конференции с международным участием "Современные аспекты интегративной физиологии", С. 29 – 30.
- [5]. Никитина Е.А. и др., Ослабленное магнитное поле Земли: влияние на транскрипционную активность генома, обучение и память у *Drosophila melanogaster*. // 2017, *Ж. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*, Т. 67, № 2, С. 246–256.

# АНТАГОНИСТ РЕЦЕПТОРА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 (IL-1Ra) УМЕНЬШАЕТ ТЯЖЕСТЬ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ВИСОЧНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Дёмина А.В.<sup>1</sup>, Зубарева О.Е.<sup>1</sup>, Смоленский И.В.<sup>1</sup>, Коваленко А.А.<sup>1</sup>, Захарова М.В.<sup>1</sup>, Шварц А.П.<sup>1</sup>, Ищенко А.М.<sup>2</sup>, Зайцев А.В.<sup>1</sup>

*e-mail: adyomina513@gmail.com*

<sup>1</sup> *Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,*

<sup>2</sup> *Федеральное государственное унитарное предприятие «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА, Санкт-Петербург, Россия*

Височная эпилепсия — хроническое неврологическое расстройство, характеризующееся склонностью к формированию спонтанных судорожных приступов и сопутствующих психоэмоциональных и когнитивных нарушений. Около 30% выявленных случаев эпилепсии резистентно к существующей терапии, что делает необходимым поиск новых терапевтических подходов [1]. Патофизиологической основой эпилепсии считается нарушение баланса между возбуждающими и тормозными медиаторными системами. Одним из способствующих этому механизмов является нейровоспаление [2]. Зачастую эпилепсия развивается вследствие травмирующих событий, таких как опухоли, травмы и инфекции, затрагивающие мозг, запускающих нейровоспалительные процессы. Травмирующие события, а также сами судороги провоцируют активацию микроглии и астроглии и повышение продукции провоспалительных цитокинов (в частности, интерлейкина-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ). Хроническая гиперактивация воспалительных процессов в эпилептическом очаге способствует усилению тяжести и повторению судорог [3]. Более того, нейровоспалительные процессы ассоциированы с психоэмоциональными (например, депрессия) и когнитивными нарушениями, наблюдающимися при эпилепсии, ухудшающими качество жизни пациентов и осложняющими подбор адекватной терапии. Центральную роль в описанных процессах играет избыточная продукция IL-1 $\beta$ , естественным антагонистом которого является антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL-1Ra) [4].

Целью работы являлся анализ влияния курсового введения IL-1Ra в период эпилептогенеза на формирование неврологических и поведенческих нарушений у крыс в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии.

Использованная в эксперименте литий-пилокарпиновая модель позволяет воспроизводить основные характеристики и этапы развития височной эпилепсии человека (инициация, латентная стадия, хронические судорожные припадки) [5]. Индукция судорог производилась у 7-ми недельных крыс самцов Wistar. Развивающиеся после введения пилокарпина судороги останавливали введением диазепама (Sigma, 10 мг/кг, в/б) через 75 минут с момента достижения 4-й стадии тяжести судорог по шкале Racine [6]. Животные, имевшие судороги меньшей тяжести, из дальнейшей работы исключались. Далее крысы случайным образом делились на две группы, одной из которых вводили IL-1Ra (ФГУП «Гос. НИИ ОЧБ» ФМБА России), в/б, 1 раз в сутки, в течение 10 дней по схеме: первые 5 дней по 100 мг/кг, затем следующие 5 дней по 50 мг/кг. Контрольным животным вводили LiCl и физиологический раствор.

Через 7 дней после индукции судорог у части животных производился забор мозга для анализа экспрессии генов провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), а также гена кислого фибриллярного белка астроцитов GFAP в вовлеченных в эпилептогенез структурах мозга (дорзальный и вентральный гиппокамп и височная кора).

У оставшихся животных оценивали неврологические показатели: выживаемость в латентный период (первые 14 дней после индукции судорог) и выраженность спонтанных рецидивирующих судорог в хроническую фазу модели, для чего через 6 недель после

индукции судорог проводили видеорегистрацию свободного поведения животных суммарной длительностью 40 часов. Для анализа поведенческих нарушений в латентную и хроническую фазы модели (соответственно, через 7 дней и 7 недель после индукции судорог) проводились следующие поведенческие тесты: Открытое поле (анализ уровня тревожности, двигательной и исследовательской активности), Тест на предпочтение сахарозы (выявление ангедонии), Социальное взаимодействие (коммуникативная активность) и Fearconditioning (память).

В результате введения IL-1Ra выживаемость крыс в латентный период не изменилась, однако в хронической фазе модели у животных, получавших IL-1Ra, наблюдалось снижение средней и суммарной длительности эпизодов спонтанных рецидивирующих судорог. Более того, доля животных, у которых сформировались спонтанные рецидивирующие судороги, в группе с введением IL-1Ra оказалась достоверно меньше, чем в группе без терапии (соответственно, 22% и 49%, хи-квадрат Пирсона = 6.24  $p$  = 0.044).

При анализе экспрессии генов IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и GFAP у крыс через 7 дней после литий-пилокарпиновых судорог было выявлено увеличение экспрессии гена IL-1 $\beta$  в дорзальном и вентральном гиппокампе, усиление экспрессии гена TNF $\alpha$  в вентральном гиппокампе и увеличение экспрессии гена GFAP во всех исследованных структурах. В целом, эти данные свидетельствуют об активации астроцитов и индукции нейровоспалительных процессов. Применение IL-1Ra не блокировало указанные эффекты.

Анализ поведенческих показателей позволил выявить следующие особенности у крыс после литий-пилокарпиновых судорог: повышенная двигательная активность в обе фазы модели, сниженная исследовательской активности (обследование норок в открытом поле) в латентный период, снижение времени коммуникации в обе фазы модели и нарушение функций памяти в хронической фазе. В группе экспериментальных крыс, получавших IL-1Ra, некоторые из выявленных отклонений поведения были нивелированы. В частности, двигательная и исследовательская активность в открытом поле были восстановлены до наблюдаемых у контрольных крыс значений только в латентной (то есть в период введения препарата), но не в хронической фазе. Более выраженный эффект обнаружен в тесте социального взаимодействия, где выявлено увеличение времени коммуникации, при этом эффект устойчиво наблюдался в обе фазы модели. Однако на функции памяти введение IL-1Ra не оказало значимого влияния. Депрессивно-подобное поведение в тесте предпочтения сахарозы не отмечалось ни в одной из групп.

Таким образом, курсовое введение IL-1Ra в период эпилептогенеза позволяет ослабить развитие височной эпилепсии и частично нивелировать сопутствующие нарушения поведения.

Работа поддержана грантом РФФ 16-15-10202-П.

#### Список цитируемой литературы

1. Perucca, E., French, J. & Bialer, M. Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances. *Lancet Neurol* 2007; 6: 793–804.
2. Aronica E., Crino P.B. Inflammation in epilepsy: Clinical observations. *Epilepsia* 2011; 52(3): 26–32.
3. Vezzani A, Viviani B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. *Neuropharmacology* 2015; 96: 70–82.
4. Rijkers K. et al. The role of interleukin-1 in seizures and epilepsy: a critical review. *Experimental neurology* 2009; 216(2): 258–271.
5. Curia G. et al. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Journal of neuroscience methods* 2008; 172(2): 143–157.
6. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 1972; 32: 281–294.

СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ КРАТКОСРОЧНОЙ И СРЕДНЕСРОЧНОЙ  
ПАМЯТИ У ЛИНИЙ *Drosophila melanogaster*, ПОЛИМОРФНЫХ ПО ГЕНУ *limk1*, ПРИ  
ПРИМЕНЕНИИ ТЕПЛООВОГО ШОКА

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

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

<sup>2</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН

e-mail: Zalomaeva.E@yandex.ru

Одной из актуальных проблем современной нейробиологии в настоящее время является понимание этиологии и прогрессирования различных нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). К данным заболеваниям относятся болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и другие. НДЗ являются результатом сложного взаимодействия неблагоприятных внешних факторов (например, стрессорные воздействия), а также индивидуальных особенностей генома, предрасполагающих к развитию болезни. В связи с этим исследование влияние стрессорных воздействий на развитие нейродегенерации представляет существенный интерес. Один из значимых стрессовых факторов - тепловой шок (ТШ), являющийся также удобным и адекватным фактором для моделирования стрессовой ситуации. Важнейшую роль в обеспечении пластичности нервной системы играет реорганизация актинового цитоскелета. Ключевым ферментом данного процесса является LIMK1 (Ковалева, 2019). Это многофункциональный белок, который регулирует организацию актинового цитоскелета путём сложных биохимических реакций. Одним из свойств, присущих НДЗ, является образование кофилин-актиновых комплексов в нейронах, что нарушает везикулярный транспорт. Анализ нуклеотидной последовательности гена *limk1 D. melanogaster* выявляет 71% гомологии с геном *limk1 H. sapiens*. В связи с этим *D. melanogaster* является наиболее удобным модельным объектом для осуществления данного исследования (Reiter et al., 2001).

Цель работы: провести анализ формирования кратко- и среднесрочной памяти у линий *Berlin* и *Oregon-R Drosophila melanogaster*, характеризующихся полиморфизмом по гену *limk1*, при применении теплового шока.

Материалы и методы исследования. В работе использовали линии *Berlin* и *Oregon-R Drosophila melanogaster*, полиморфные по гену *limk1*, для которых ранее показано нарушение способности к обучению (Никитина и др., 2014). Исследование проводили на взрослых 5-суточных самцах. Тепловое воздействие проводили за 1 час до эксперимента в водном термостате при температуре +37°C в течение 30 мин. Способность к обучению и формированию памяти оценивали методом условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) самца за оплодотворенной самкой. Обучение и тестирование проводили в специальных камерах из оргстекла. Для выработки УРПУ5-суточного самца, не имеющего опыта полового поведения, помещали в камеру вместе с оплодотворенной самкой дикого типа *CS* и оставляли на 30 минут. Поведение ухаживания анализировали у наивных самцов и у самцов спустя 0, 15, 30, 60 минут и через 1 сутки после обучения. Поведение самца регистрировали с помощью специальной программы в течение 300 секунд, фиксируя время начала отдельных элементов ухаживания (ориентация и преследование, вибрация, попытка копуляции), а также время исполнения элементов, не связанных с ухаживанием (активность (побежка), прининг, покой). Для расшифровки и анализа данных использовали специально разработанные компьютерные программы (автор – Н.Г. Камышев). Для количественной оценки результатов обучения вычисляли индекс обучения (ИО). Статистический анализ проводили с использованием двустороннего теста рандомизации. Критический уровень достоверности нулевой гипотезы принимали равным вероятности не менее 95% ( $p < 0,05$ ).

Результаты исследования. У мух линии *Berlin* с ТШ и без него ИО на всех временных интервалах были на высоком уровне и достоверно отличались от 0, но не отличались друг от

друга ( $p < 0.05$ ). На рисунке 1 можно увидеть тенденцию к снижению ИО на точках от 0 минут до 1 суток: ИО через 0 минут достоверно больше ИО через 1 суток после обучения в 4 раза с ТШ и без него ( $p < 0,05$ ). У мух линии *Oregon-R* с ТШ и без него ИО на всех интервалах были на низком уровне и достоверно не отличались от 0 и друг от друга. Достоверных различий между ИО мух одной линии на аналогичных точках с ТШ и без ТШ не было выявлено. Однако исследование выявило различия ИО у мух разных линий на аналогичных точках. Так, например, ИО мух линии *Berlin* были достоверно выше ИО мух линии *Oregon-R* через 0 и 30 минут в 3 и 4,5 раза, соответственно, без ТШ, и через 0, 30, 60 минут и через 1 сутки в 5, 6, 5 и 7 раз, соответственно, с ТШ ( $p < 0,05$ ).

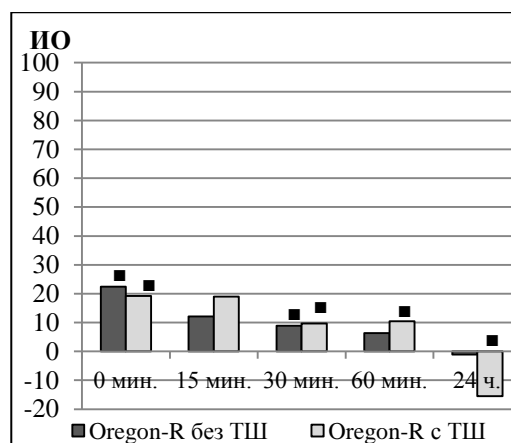
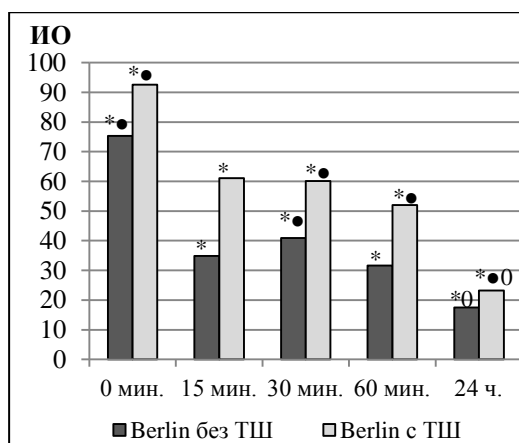


Рисунок 1. Индекс обучения у мух линии *Berlin* при воздействии ТШ и без него.

Рисунок 2. Индекс обучения у мух линии *Oregon-R* при воздействии ТШ и без него.

Примечание:

\* - ИО достоверно отличается от 0 (нулевая линия) ,  $p < 0,05$ ;

0 –ИО достоверно отличается от 0 мин. своей линии,  $p < 0,05$ ;

■ –ИО достоверно отличается от ИО мух линии *Oregon-R*,  $p < 0,05$ ;

● - ИО достоверно отличается от ИО мух линии *Berlin*,  $p < 0,05$ .

Выводы. Таким образом, мухи линии *Berlin* способны к формированию кратко- и среднесрочной памяти и её сохранению до 1 суток, в то время, как мухи линии *Oregon-R* не способны к формированию памяти вовсе. Также было выявлено, что ТШ не оказывает прямого влияния на формирование памяти у мух исследуемых линий, однако при воздействии ТШ между линиями были выявлены различия в формировании памяти. Это может свидетельствовать о возможном влиянии ТШ на динамику изменения ИО и активность процессов забывания и требует дальнейшего изучения.

Список цитируемой литературы:

1. Ковалева Т.С., Максимова Н.С., Жуков И.Ю., Першин В.И., Мухина И.В., Гайнуллин М.Р. Кофилин: молекулярно-клеточные функции и роль в функционировании нервной системы // *Нейрохимия* - 2019. –Т. 36. №1. – С. 14-23.

2. Никитина Е.А., Каминская А.Н., Молотков Д.А., Попов А.В., Савватеева-Попова Е.В. Влияние теплового шока на обучение, формирование памяти и содержание LIMK1 в мозге самцов *Drosophila melanogaster* с измененной структурой гена *limk1* // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии*. - 2014. - Т. 50. № 2. - С. 137 – 147.

3. Reiter L.T., Potocki L., Chien S., Gribskov M., Bier E. A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster* // *Genome Res.* - 2001. - V. 11. № 6. - P. 1114-1125

## ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ITPR2 В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЯХ ЭПИЛЕПСИИ.

Захарова М.В., Коваленко А.А., Шварц А.П., Демина А.В., Зубарева О.Е., Зайцев А.В.

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

*e-mail: [zaharova-masha@yandex.ru](mailto:zaharova-masha@yandex.ru)*

Исследования последних лет указывают на роль кальциевых каналов в патогенезе эпилепсии. Описано значительное повышение концентрации астроцитарного  $Ca^{2+}$  во время эпилептиформной активности [2, 4, 10]. Рост концентрации  $Ca^{2+}$  может привести к высвобождению глутамата из астроцитов и влиять на синаптическую пластичность [1, 8, 9]. Ding с соавторами в пилокарпиновой модели эпилепсии, используя двухфотонную микроскопию *in vivo*, показали усиление астроцитарных сигналов  $Ca^{2+}$  в коре через 3 дня после введения конвульсанта и этот период коррелировал с отсроченной гибелью нейронов [3]. Повышение уровня цитоплазматического кальция в ответ на повышение уровня инозитол-трифосфата опосредуется инозитол 1,4,5-трифосфатными рецепторами второго типа (ITPR2). IPR2 являются критическим и необходимым компонентом сигнального кальциевого пути в астроцитах, что было доказано в работах с животными нокаутными по гену *Itp2* [5–7]. Neuser с соавторами показали, что мыши *Itp2*<sup>-/-</sup> проявляли на 60% меньше эпилептиформной активности на ЭЭГ по сравнению с мышами дикого типа [5]. Однако особенности экспрессии гена *Itp2* в различных моделях эпилепсии остаются неисследованными.

Целью работы явилось изучение изменений экспрессии гена *Itp2* в мозге крыс в модели фебрильных судорог (ФС), в пенталентетразоловой и литий-пилокарпиновой моделях эпилепсии. Во всех экспериментах были использованы крысы самцы Вистар.

ФС были использованы для изучения изменений, происходящих в мозге при судорожных состояниях на ранних этапах развития. ФС индуцировали у 10-11-дневных крысят с помощью нагревания их теплым воздухом до развития выраженных судорог. Температура тела контролировалась, в случае ее повышения до 42 °С крысят извлекали из установки и охлаждали. Продолжительность эксперимента составляла 30 минут.

Введение пентилентетразола ПТЗ применяли для моделирования острых однократных судорог. ПТЗ (в/б, 70 мг/кг) вводили крысам в возрасте 20-22 дней жизни. В эксперименте использовали только животных, у которых развивались выраженные тонико-клонические судороги.

Литий - пилокарпиновая модель височной эпилепсии (Li-ПК) была использована для изучения хронических эпилептических процессов. Введение ПК вызывает у экспериментальных животных эпилептический статус, после чего в течение нескольких недель (латентный период модели) в мозге крыс развиваются эпилептические процессы, которые, однако, не сопровождаются выраженными двигательными судорогами, далее в хронический период модели появляются спонтанные рецидивирующие судороги. Для формирования Li-ПК модели, 7-8 недельным крысам вводили р-р LiCl (в/б, 127 мг/кг), затем через 24 часа метилскополамин (в/б, 1 мг/кг), через 30 минут - ПК (в/б, 20-30 мг/кг, по 10 мг/кг каждые 30 минут до появления выраженных судорог). Длительность судорог составляла 75 минут, после чего их прекращали введением диазепама (10 мг/кг). Контрольным животным вместо ПК вводили физ.р-р.

Забор структур мозга (вентральный и дорзальный отделы гиппокампа) для анализа производили через 3 и 10 дней после судорог в модели ФС; через 3 часа, 1, 3, 7 после пентилентетразоловых судорог; через 3, 7 суток (латентная фаза) и 60 суток (хроническая фаза) в Li-ПК модели височной эпилепсии.

Анализ экспрессии гена *Itpr2* в клетках мозга, проводили методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Результаты, полученные для *Itpr2*, нормировали по среднему геометрическому результатов, полученных для трех генов домашнего хозяйства, которые были подобраны в отдельном исследовании для каждой экспериментальной модели: ПТЗ - Actin, Gapdh, B2m (дорзальный гиппокамп) и Ppia, Rpl3a, Sdha (вентральный гиппокамп); Li-ПК - Gapdh, Pgk1, Ppia (дорзальный гиппокамп) и Hprt1, Pgk1, Ppia (вентральный гиппокамп); ФС – Ppia (дорзальный гиппокамп) и Gapdh, Pgk1, Hprt1 (вентральный гиппокамп).

Показано, что через 3 дня после ФС экспрессия гена *Itpr2* снижалась в дорзальном гиппокампе. После введения ПК, напротив, отмечалось усиление экспрессии гена *Itpr2* во всех обследованных областях мозга в латентную фазу модели (через 3 дня после судорог), в хроническую фазу изменений не выявлено. Также усиление экспрессии гена *Itpr2* было выявлено в клетках вентрального гиппокампа через 3 дня после ПТЗ судорог. Эти изменения позволяют предполагать усиление Ca<sup>2+</sup> сигналинга в исследуемых структурах мозга в ПК и ПТЗ моделях.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможной вовлеченности IP3R2 в эпилептогенез, направленность изменений экспрессии гена *Itpr2* зависела от использованной экспериментальной модели.

Работа поддержана грантом РФФИ N [17-00-00408](#).

#### Список цитируемой литературы

1. Achour S. Ben, Pascual O. Glia: The many ways to modulate synaptic plasticity // *Neurochemistry International*. 2010. № 4 (57). P. 440–445.
2. Boison D., Laboratories D.N., Faculty M. Epilepsy and astrocyte energy metabolism // *Glia*. 2019. № 66 (6). P. 1235–1243.
3. Ding S., Fellin T., Zhu Y., Lee S., Auberson Y.P., Meaney D.F., Coulter D.A., Carmignoto G., Haydon P.G. Enhanced Astrocytic Ca<sup>2+</sup> Signals Contribute to Neuronal Excitotoxicity after Status Epilepticus // *The Journal of Neuroscience*. 2007. № 27 (40). P. 10674–10684.
4. Fellin T., Gomez-gonzalo M., Gobbo S., Carmignoto G., Haydon P.G. Astrocytic Glutamate Is Not Necessary for the Generation of Epileptiform Neuronal Activity in Hippocampal Slices // *The Journal of Neuroscience*. 2006. № 36 (26). P. 9312–9322.
5. Heuser K., Nome C.G., Pettersen K.H., Åbjørsbråten K.S., Jensen V., Tang W., Sprengel R., Taubøll E., Nagelhus E.A., Enger R. Ca<sup>2+</sup> Signals in Astrocytes Facilitate Spread of Epileptiform Activity // Oxford University Press. 2018. (28). P. 4036–4048.
6. Jarand M.E., Anna B.H., Wannan E.T., Enger R., Jensen V., Pettersen K.H., Nagelhus E.A. Astroglial endfeet exhibit distinct Ca<sup>2+</sup> signals during hypoosmotic conditions // *Glia*. 2019. (67). P. 2399–2409.
7. Petravicz J., Boyt K.M., Mccarthy K.D., Stanwood G. Astrocyte IP3R2-dependent Ca<sup>2+</sup> signaling is not a major modulator of neuronal pathways governing behavior // *Behavioral Neuroscience*. 2014. (8). P. 1–13.
8. Pittà M. De, Brunel N., Volterra A. Astrocytes: Orchestrating synaptic plasticity? // *Neuroscience*. 2016. (323). P. 43–61.
9. Ronzano R. Astrocytes, microglie et plasticité synaptique // *Medecine/Sciences*. 2017. № 12 (33). P. 1071–1078.
10. Tian G., Azmi H., Takano T., Xu Q., Peng W., Lin J., Oberheim N., Lou N., Wang X., Zielke H.R., Kang J., Nedergaard M. An astrocytic basis of epilepsy // *NATURE MEDICINE*. 2005. № 9 (11). P. 973–981.



## СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ГИПОКСИЧЕСКОГО ПРЕ- И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ В МОДЕЛИ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗА У КРЫС

Зенько М.Ю.

*ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург  
e-mail: zenkomichail@mail.ru*

Одним из новых эффективных способов коррекции поведенческих нарушений крыс в моделях различных стрессорных расстройств является пре- и посткондиционирование умеренной гипобарической гипоксией (360 мм рт ст., 2 ч, 3 сеанса). Механизмы гипоксического пре/посткондиционирования до настоящего времени практически не изучены и представляют собой актуальную проблему для исследований. Цель работы состояла в анализе гастро- и стресс-протективного эффекта гипоксического пре- и посткондиционирования в модели ulcerогенного стресса у крыс. Эксперименты были выполнены на 72 лабораторных крысах-самцах линии Вистар из ресурсов ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН» с массой тела 200–250 г. Экспериментальная ulcerогенная модель холодого стресса, «cold-restraint stress», использованная в данных экспериментах, состоит из предварительного суточного голодания животных в клетках с решетчатым дном и 3-часовой иммобилизации в пластиковых пеналах на холоде (6-10 °С). В группе преко́ндиционирования предъявление сеансов гипобарической гипоксии проводилось 3 суток до ulcerогенного стресса, в группе посткондиционирования – после. Для мониторинга развития возможных поведенческих отклонений применяли тесты «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Базальный и стрессорный уровни кортикостерона в крови животных оценивали методом иммуноферментного анализа. На 3 или 6 день, соответственно, производилась декапитация животных, ткани головного мозга извлекали для фиксации, желудка – для подсчета средней площади эрозий. Изменения числа GR-, CRFR-, кортиколиберин-иммунопозитивных клеток в гиппокампе и фронтопариетальном неокортексе оценивали методом количественной иммуногистохимии. Модель ulcerогенеза сопровождалась образованием эрозий желудка, ПреК же в свою очередь уменьшало их площадь. Поведенческое тестирование животных в тестах ОП и ПКЛ показало достоверное отличие ряда показателей от контроля только в ранние сроки после стрессорного воздействия – то есть до трех суток. Поведение животных группы гипоксического преко́ндиционирования после ulcerогенного стресса в тесте «Открытое поле» достоверно показало эффективность ПреК, а на 6-ые сутки эффект ulcerогенного стресса на поведенческом уровне уже не проявлялся, что, скорее всего свидетельствует о небольшой длительности патологий в данной модели. Изучение базального уровня кортикостерона крови выявило достоверное отличие группы ulcerогенного стресса на 3 сутки после него, но не позже, у таких животных базальный уровень КС был повышен, также эти животные отличались по динамике стресс-реактивности от контрольных. Количественный иммуногистохимический анализ животных в группах ulcerогенного стресса и посткондиционирования не выявил достоверных отличий иммунореактивности к глюкокортикоидным и кортиколибериновым рецепторам, а также кортиколиберину на 7 сутки после стрессорного воздействия, ни в гиппокампе, ни в неокортексе. Полученные результаты свидетельствуют о наличии в модели холодого ulcerогенного стресса кратковременных нарушений на гормональном и поведенческих уровнях, их коррекция в режиме гипоксического преко́ндиционирования показала свою эффективность, в свою очередь оценка эффективности гипоксического посткондиционирования затруднена из-за относительно небольшой длительности патологии в данной модели.

Работа поддержана грантом РФФИ №19-015-00336.

## ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА KED НА НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА У МЫШЕЙ ЛИНИИ 5xFAD

Ильина А.Р.<sup>1,2</sup>, Красковская Н.А.<sup>2</sup>, Линькова Н.С.<sup>1,3</sup>, Ерофеев А.И.<sup>2</sup>, Хавинсон В.Х.<sup>1,4</sup>,

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Академия постдипломного образования ФНКЦ специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва

<sup>4</sup> Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

e-mail: [ilinaanastasiar@gmail.com](mailto:ilinaanastasiar@gmail.com)

Болезнь Альцгеймера (БА) – распространенное нейродегенеративное заболевание, которое характеризуется нарушениями кратковременной памяти и способности к обучению [4]. Молекулярно-клеточным субстратом памяти является нейропластичность, которая основана на физиологическом явлении долговременной потенциации (ДВП) [6].

Существующие препараты не позволяют остановить прогрессирование БА. Пептид KED (Lys-Glu-Asp, Везуген) обладает вазопротекторным действием и проявляет нейропротекторные свойства в первичной культуре нейронов гиппокампа мышей в условиях амилоидной синаптической токсичности [1], а также стимулирует нейрональную дифференцировку дендральных стволовых клеток человека [2]. Цель работы – оценить влияние пептида KED на нейропластичность в модели БА у мышей.

Методы. В качестве модели БА использовали трансгенную линию мышей 5xFAD (B6SJL-Tg(APP<sup>S</sup>wF1L<sup>on</sup>,PSEN1\*<sup>M146L</sup>\*<sup>L286V</sup>)6799Vas/Mmjax, StockNo:34840-JAX) [1], которая содержит 5 наследственных мутаций, ассоциированных с семейной формой БА [5]. Экспериментальные группы были сформированы следующим образом: 1 - мыши дикого типа (введение физиологического раствора, контроль, n=10); 2 - мыши линии 5xFAD (введение физиологического раствора, n=10), 3 - мыши линии 5xFAD (введение пептида KED, n=10). Пептид KED и физиологический раствор вводили животным с 2 до 4 мес жизни ежедневно однократно внутривентрально в утренние часы в концентрации 400 мкг/кг. Влияние пептида KED на нейропластичность исследовали электрофизиологическим методом регистрации полевых потенциалов с оценкой ДВП. Для этого стимулировали коллатеральный путь Шаффера на границе полей CA2 и CA1 гиппокампа и регистрировали полевые возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) в *substratum radiatum* CA1 области гиппокампа. ДВП индуцировали высокочастотной стимуляцией 100 Гц. Нейропластичность оценивали по углублению восходящей фазы пВПСП через 50 мин после индукции ДВП. Статистический анализ результатов проводили в программе Clampfit

(Axon™pCLAMP™ 10 ElectrophysiologyDataAcquisition&AnalysisSoftware) и Statistica 12 с использованием критерияКрускала-Уоллиса и S-критерия тенденцийДжонкхира.

Результаты исследования. При измерении угла наклона восходящей фазы пВПСП в исследуемых группах статистически значимых различий выявлено не было (Рис. А, Б). При использовании критерия Джонкхира установлена выраженная тенденция к возрастанию показателя пластичности при последовательном переходе от группы 5xFAD к группам WT и KED ( $p < 0,05$ ). Наблюдаемая тенденция к увеличению ДВП у мышей линии 5xFAD при введении пептида KED свидетельствует о возможной способности данного пептида восстанавливать нейропластичность на ранней стадии БА.

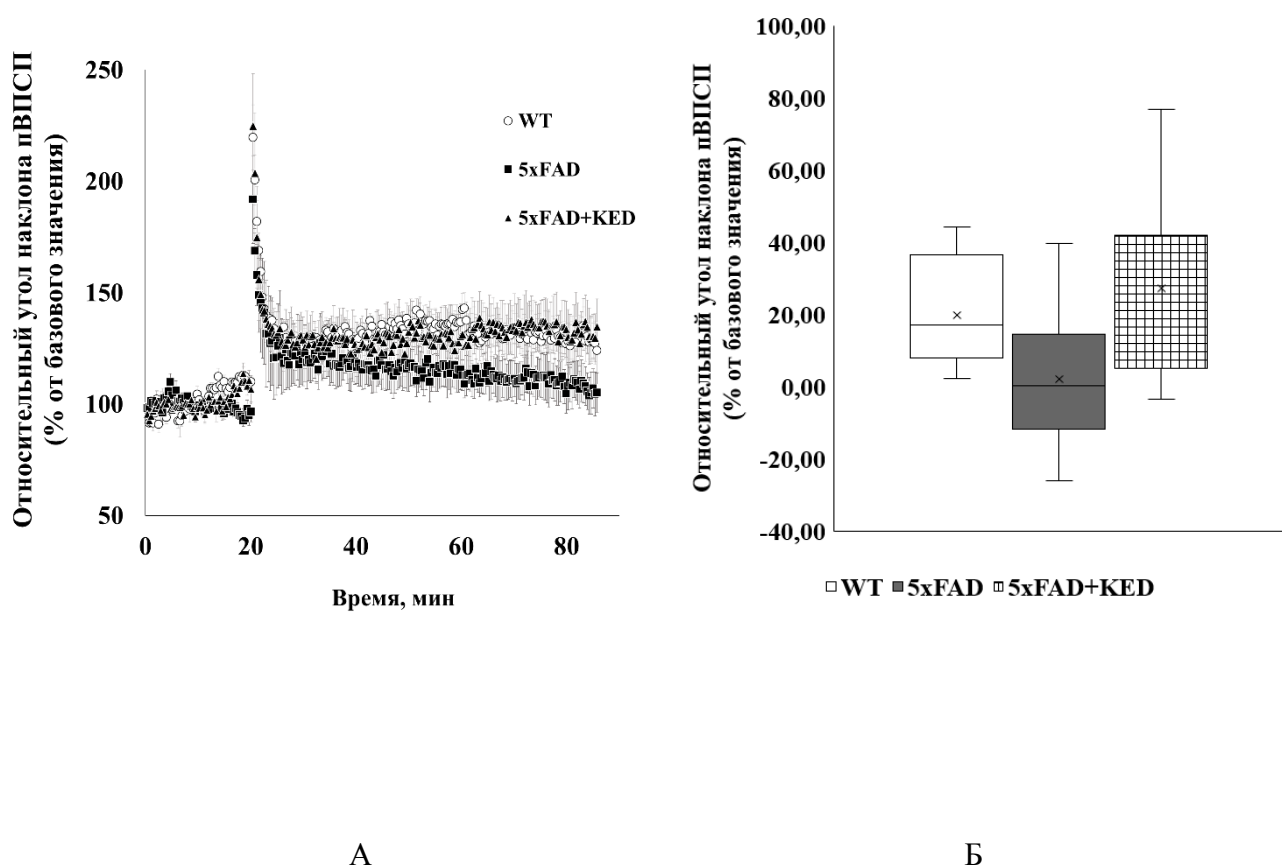


Рис. Относительный угол наклона восходящей фазы пВПСП в СА1 области гиппокампа мышей линии 5xFAD и мышей дикого типа (WT): А – временной профиль пВПСП до и после индукции ДВП, усредненные данные по группам. Б – групповые различия относительного угла наклона восходящей фазы пВПСП, зарегистрированного через 50 мин после индукции ДВП.

## Список цитируемой литературы

1. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. Клиническая медицина. 2020;98(3):165-177.
2. Caputi S., Trubiani O., Sinjari B., Trofimova S., Diomede F., Linkova N., Diatlova A., Khavinson V. Effect of short peptides on neuronal differentiation of stem cells. International Journal of Immunopathology and Pharmacology. 2019;33:1-12.
3. Jawhar S., Trawicka A., Jenneckens C., Bayer T.A., Wirths O. Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal A $\beta$  aggregation in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2012;33(1):196.e29-196.e1.96E40.
4. Long J.M., Holtzman D.M. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. Cell. 2019;179(2):312-339.
5. Oakley H., Cole S.L., Logan S., Maus E., Shao P., Craft J., Guillozet-Bongaarts A., Ohno M., Disterhoft J., Van Eldik L., Berry R., Vassar R. Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. J Neurosci. 2006;26(40):10129-10140.
6. Segal M. Dendritic spines: Morphological building blocks of memory. Neurobiol Learn Mem. 2017;138:3-9.

### ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА PPAR $\beta/\delta$ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ПИЛОКАРПИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ЭПИЛЕПТОГЕНЕЗЕ

Коваленко А.А.<sup>1</sup>, Захарова М.В.<sup>1</sup>, Демина А.В.<sup>1</sup>, Шварц А.П.<sup>1</sup>, Мелик-Касумов Т.Б.<sup>2</sup>,  
Зубарева О.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук

<sup>2</sup>Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси»

e-mail: kovalenko\_0911@mail.ru

Рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (PPARs) являются транскрипционными факторами, регулирующими экспрессию ряда генов, вовлеченных в обмен углеводов и липидов, регуляцию механизмов нейропластичности, воспалительных и нейродегенеративных процессов. Идентифицировано 3 типа PPARs:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  и  $\gamma$ . Все три типа PPARs экспрессируются в различных клетках мозга (Halletal., 2008, Wardenetal., 2016). Агонисты PPARs за счет нейропротекторных и противовоспалительных эффектов рассматриваются как перспективные для терапии ряда тяжелых заболеваний нервной системы, включая эпилепсию (Pulighedduetal., 2013). При этом особенности экспрессии генов PPARs в клетках мозга в процессе эпилептогенеза исследованы недостаточно.

Целью данной работы являлось изучение экспрессии генов PPAR $\alpha$ (Ppara)и PPAR  $\beta/\delta$  (Ppard)в вентральной и дорзальной областях гиппокампа крыс в период эпилептогенеза в литий-пилокарпиновой модели височной эпилепсии.

Литий-пилокарпиновая модель считается одной из лучших экспериментальных моделей височной эпилепсии. Она характеризуется тем, что после острых судорог, индуцированных введением пилокарпина, в мозге постепенно (латентная фаза модели) развиваются хронические эпилептические процессы, приводящие через некоторое время (хроническая фаза модели)к появлению спонтанных рецидивирующих судорог.В эксперименте были использованы крысы самцы Wistar в возрасте 7-8 недель, которым вводили раствор LiCl (в/б, 127 мг/кг), затем через 24 часа метилскополамин(в/б, 1 мг/кг), через 30 минут -пилокарпин (в/б, 20-30 мг/кг, по 10 мг/кг, с интервалом 30 минут, до достижения выраженных

судорог). Контрольным животным вместо пилокарпина вводили физиологический раствор. Ранее было показано, что в данной модели у большинства экспериментальных крыс через несколько недель после введения пилокарпина развиваются спонтанные рецидивирующие судороги. Исследование изменений экспрессии генов *Ppara* и *Ppard* выполнено методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией в реальном времени в латентную фазу литий-пилокарпиновой модели (на 7 сутки после введения пилокарпина). Результаты, полученные для генов интереса, нормировали по гену пептидил-пролил-изомеразы А (*Ppia*), стабильность которого подтверждена на экспериментальной модели судорог (Swijsen et al., 2012).

Показано, что в латентную фазу модели пилокарпин-индуцированные судороги достоверно снижали экспрессию гена *Ppard* в дорзальной, но не вентральной области гиппокампа. Достоверных изменений продукции РНК гена *Ppara* не выявлено.

Полученные результаты указывают на то, что изменение экспрессии гена *Ppard* может являться одним из факторов эпилептогенеза.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-515-00020 и грантом БРФФИ № М20М-328.

Список цитируемой литературы:

1. Hall M.G., Quignodon L., Desvergne B. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor beta/delta in the Brain: Facts and Hypothesis. *PPAR Res.* 2008. 2008:780452.
2. Puligheddu M., Pillolla G., Melis M., Lecca S., Marrosu F., De Montis M.G., Scheggi S., Carta G., Murru E., Aroni S., Muntoni A.L., Pistis M. PPAR-alpha agonists as novel antiepileptic drugs: preclinical findings. *PLoS One.* 2013. 8(5):e64541.
3. Swijsen A., Nelissen K., Janssen D., Rigo J.M., Hoogland G. Validation of reference genes for quantitative real-time PCR studies in the dentate gyrus after experimental febrile seizures. *BMC Res Notes.* 2012. 5:685.
4. Warden A., Truitt J., Merriman M., Ponomareva O., Jameson K., Ferguson L.B., Mayfield R.D., Harris R.A. Localization of PPAR isotypes in the adult mouse and human brain. *Sci. Rep.* 2016. 6:27618.

## АДАПТАЦИОННАЯ ПАМЯТЬ ПАЛОЧЕК СЕТЧАТКИ: ПРОБЛЕМА СВЕТОВОЙ АДАПТАЦИИ И ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫЕ ОБРАЗЫ

Ротов А.Ю., Астахова Л.А., Фирсов М.Л., Говардовский В.И.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: rotovau@gmail.com*

Высокая чувствительность палочек сетчатки позволяет им надежно реагировать на одиночные кванты света. При этом они сохраняют работоспособность при световых потоках до  $10^5$  квантов в секунду, что поддерживается эффективной системой световой адаптации, регулирующей чувствительность и быстродействие каскада фототрансдукции. Световая адаптация основана на отрицательной обратной связи, реализуемой через изменения внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ . Надежно идентифицированы три контура кальциевой регуляции – ускорение выключения фотоактивированного родопсина, ускорение синтеза цГМФ гуанилатциклазой и повышение сродства цГМФ-управляемых ионных каналов к нуклеотиду [Arshavsky & Burns, 2012]. Известно, однако, что суммарная регуляция чувствительности этими механизмами недостаточна для объяснения полного диапазона работы палочки и существуют еще как минимум два высокоэффективных механизма адаптации. Один из них регулирует время жизни активированной фосфодиэстеразы [Astakhova et al., 2008], а для второго мишень регуляции остается неизвестной [Calvert et al., 2002]. Неизвестны также посредники этих

регуляций. Начав экспериментальное исследование неизученных механизмов световой адаптации, мы обнаружили новый феномен, который и описан в настоящей работе.

Работа была выполнена на палочках озерной лягушки (*Rana ridibunda*). Фототок одиночных клеток регистрировали при помощи всасывающей пипетки. В ходе экспериментального протокола палочку периодически стимулировали короткими вспышками (2 мс,  $\lambda_{\max}$  525 нм), вызывающими ответ, составляющий примерно 30% от насыщенного. После первой вспышки, поданной в состоянии темновой адаптации, включали фоновый стимул длительностью 40 с. После выключения фона фототок возвращается к темновому уровню и в то же время градуально восстанавливаются ответы на вспышки. Однако в момент формально полного восстановления темнового тока через 25 с после выключения фона амплитуда ответа на вспышки составляет только примерно половину от исходной темноадаптированной (вспышка 4 на Рис. 1, А, Б). Полное восстановление чувствительности не достигается даже через полторы минуты темновой адаптации. Мы назвали этот эффект «адаптационной памятью».

Вестественных условиях изменение освещенности в каждой точке сетчатки может соответствовать достаточно длительным по времени изменениям интенсивности. Поэтому мы также провели эксперименты, подавая вместо тестовых вспышек стимулы длительностью 2 с (Рис. 1, В, Г). Эффект адаптационной памяти оказался более выраженным для длительных стимулов, чем в экспериментах с короткими вспышками 2 мс (Рис. 1, Д).

Сравнение ответов на короткие вспышки в состоянии темновой адаптации и после выключения фона показывает, что в ходе адаптации крутизна фронта ответов не изменяется. Из этого следует, что при адаптации не происходит изменения коэффициента усиления в каскаде, т.е. скорости его активации. Напротив, происходит замедление процессов выключения каскада, их возврат к «темновой» кинетике. Увеличение длительности ответов на вспышки при выходе из насыщения параллельно с увеличением их амплитуды означает, что при темновой адаптации увеличивается время интегрирования фототока. Его увеличение должно дополнительно повышать чувствительность к длительным стимулам, что соответствует нашим результатам.

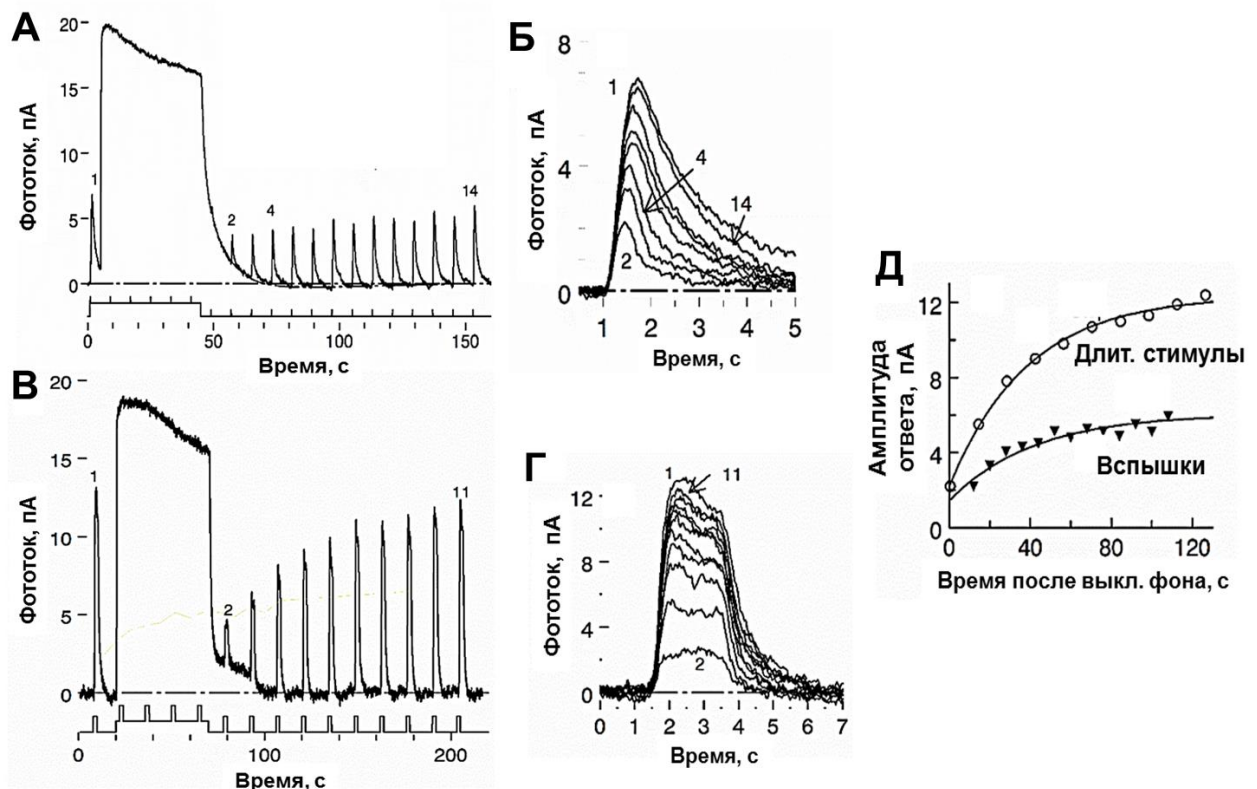


Рис. 1. Ответ палочки лягушки на периодические 2 мсвспышки(А), или 2 с стимулы (В) с наложенным 40-секундным адаптирующим фоном. Под кривыми показана отметка стимула. (Б, Г) изменение амплитуды и кинетики ответов на вспышки и длительные стимулы, выделенных из участков, соответствующих темновой адаптации на записях (А) и (В), соответственно. (Д) сравнение хода темновой адаптации при тестировании 2 мсвспышками и 2с стимулами. Сплошные кривые – одноэкспоненциальные аппроксимации с постоянными времени 39 с для длительных стимулов и 42 с для коротких вспышек.

Описанный нами феномен адаптационной памяти дополнительно усложняет проблему объяснения механизмов световой адаптации. В существующей схеме возвращение фототока к темновому уровню должно соответствовать восстановлению «темновой» концентрации  $Ca^{2+}$  и возвращению всех компонентов каскада в темноадаптированное состояние. В действительности чувствительность палочки остается сниженной, а кинетика ответа существенно ускоренной еще более минуты. Адаптационная память предполагает существование длительной модификации компонентов каскада фототрансдукции, возможно, не зависящей от  $Ca^{2+}$ . Исследование этих адаптационных механизмов должно стать задачей дальнейшей работы.

Следует отметить, что поведение палочки после выключения светоадаптирующего фона напоминает феноменологию последовательных образов. Постепенное возвращение мембранного тока к темновому уровню могло бы соответствовать затуханию положительного последовательного образа, а длительное снижение чувствительности фоторецепторов к добавочной стимуляции может обеспечить возникновение негативного образа. Вопрос об источниках последовательных образов в глазу остается нерешенным, однако наши результаты показывают, что необходимые для их генерации свойства обнаруживаются уже на самом первом уровне передачи зрительной информации – в выходных сигналах фоторецепторов.

## ИЗУЧЕНИЕ ОРЕКСИН-СОДЕРЖАЩЕЙ СИСТЕМЫ ГИПОТАЛАМУСА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ

*Рудель А.Е.<sup>1</sup>, Гаврилов Ю.В.<sup>2</sup>*

*1 Институт экспериментальной медицины ФБГНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, Россия*

*2 Институт экспериментальной медицины ФБГНУ «ИЭМ», Санкт-Петербург, Россия*

*e-mail: alenarudel@gmail.com*

Хронический алкоголизм является полигенным заболеванием, возникающим в результате длительного систематического злоупотребления спиртными напитками, характеризующееся толерантностью к алкоголю, патологическим влечением к алкогольной интоксикации и абстинентным синдромом. Данное заболевание является одним из ведущих факторов риска заболеваемости и смертности по всему миру.

Учитывая широкое распространение и высокий процент смертности по всему миру, алкогольная зависимость остаётся важной медицинской и социальной проблемой [1].

Несмотря на продолжительность существования данной проблемы и ее многочисленные исследования, патогенез алкогольной зависимости до конца не изучен.

В нескольких исследованиях сообщалось, что орексинергические нейроны, расположенные в латеральном гипоталамусе, могут участвовать в регуляции системы вознаграждения и мотивации [2].

Продемонстрировано, что количество орексин-содержащих нейронов увеличивается при опиатной зависимости у людей и кокаиновой и алкогольной зависимостях у крыс [3, 4]. Однако, в литературе не было обнаружено данных, связанных с изменением количества орексинергических нейронов при алкогольной зависимости у человека.

Существуют доклинические данные, свидетельствующие о том, что система орексинов участвует в поведенческих и неврологических механизмах злоупотребления алкоголем и наркотиками [3-5].

Согласно имеющимся литературным данным, орексинергическая система влияет на употребление алкоголя в экспериментальных моделях на животных, однако степень участия орексинергической системы в процесс развития алкогольной зависимости у людей не изучена.

В связи с этим, целью работы стало сравнительное изучение изменений орексинергической системы гипоталамуса у пациентов, страдающих хронической алкогольной зависимостью и лиц без патологии ЦНС.

Для достижения поставленной цели определяли количество орексин-содержащих нейронов в аутопсийном материале гипоталамуса больных хроническим алкоголизмом и лиц без патологии ЦНС.

Исследование проводили на аутопсийном материале ткани гипоталамуса человека, полученного из архивов патологоанатомических отделений. Материал был получен от 6 доноров мужского пола в возрасте от 44 до 64 лет, в течение 24 часов после наступления смерти. Хранение осуществляли в 10% забуференном формалине в течение 1-3 месяцев при температуре 4°C.

У пациентов контрольной и опытной групп были диагностированы заболевания органов дыхания и сердечно-сосудистой системы. У пациентов опытной группы врачами профильных направлений был диагностирован хронический алкоголизм.

Для выявления орексин-содержащих нейронов использовали иммуногистохимический метод исследования (авидин-биотиновая модификация). Первичные антитела к орексину А («Abcam», 1:4000) наносили на срезы и инкубировали по крайней мере в течение суток при 4° С. После трехкратной смены ФБС вторичные биотинилированные антитела («Abcam», 1:2500) наносили на срезы и инкубировали в течение 1-2 часов. После трехкратной смены ФБС наносили на срезы авидин-пероксидазу («Sigma», 1:1000) и инкубировали 1-1,5 часа. Этап с окрашиванием срезов заключался в нанесении красителя ДАБ (3,3'-Диаминобензидин, «Abcam», 1:100) и инкубации в течение 1-2 минуты с последующей трехкратной сменой раствора ФБС по 5-15 минут.

Результаты исследования показали, что различий между общим количеством орексин-позитивных нейронов в аутопсийном материале гипоталамуса пациентов с хроническим алкоголизмом и контрольной группы, не наблюдалось.



При проведении сравнительного анализа количества орексинергических нейронов, распределенных в левом и правом полушариях гипоталамуса, не было обнаружено достоверных различий между контрольной группой и группой пациентов, страдающих хроническим алкоголизмом.

При подсчете общего количества орексин-позитивных нейронов у контрольной группы и у пациентов, страдающих алкогольной зависимостью не выявлено значимых различий на всех исследуемых уровнях мозга (22-32 уровни атласа мозга человека Jurgen's). Наибольшее количество орексин-иммунопозитивных нейронов в гипоталамусе человека наблюдалось на 26-30 уровнях головного мозга, что соответствует уровню распределения орексиновых нейронов в гипоталамусе у других авторов, исследующих аутопсийный материал человека [6].

По результатам исследования сделаны выводы о целесообразности дальнейшего исследования орексинергической системы в совокупности с другими нейромедиаторными системами, такими как дофаминовая, ГАМК-ергическая и гистаминергическая, а также изучения распределения орексиновых рецепторов в структурах головного мозга, ассоциированных с формированием зависимостей, что поможет понять их возможное участие в различных межнейрональных взаимодействиях при развитии хронической алкогольной зависимости.

#### Список цитируемой литературы

1. Holmes M. WHO alcohol brief intervention training manual for primary care. – 2017.
2. Schneider E. R. et al. Orexigenic peptides and alcohol intake: differential effects of orexin, galanin, and ghrelin // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. – 2007. – Т. 31. – №. 11. – С. 1858-1865
3. Harris G. C., Wimmer M., Aston-Jones G. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking // *Nature*. – 2005. – Т. 437. – №. 7058. – С. 556-559.
4. Thannickal T. C. et al. Opiates increase the number of hypocretin-producing cells in human and mouse brain and reverse cataplexy in a mouse model of narcolepsy // *Science translational medicine*. – 2018. – Т. 10. – №. 447. – С. eaao4953.
5. Aston-Jones G. et al. Role of lateral hypothalamic orexin neurons in reward processing and addiction // *Neuropharmacology*. – 2009. – Т. 56. – С. 112-121.
6. Valko P. O. et al. Increase of histaminergic tuberomammillary neurons in narcolepsy // *Annals of neurology*. – 2013. – Т. 74. – №. 6. – С. 794-804.

#### НАРУШЕНИЕ ПЛАСТИЧНОСТИ СИНАПСОВ В ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ МЫШЕЙ С МОДЕЛЬНЫМ СТРЕССОВЫМ РАССТРОЙСТВОМ

Сербина А.В.<sup>1</sup>, Богданов А.О.<sup>1</sup>, Панкратов Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Балтийский Федеральный Университет имени И. Канта, Институт живых систем, Калининград, Российская Федерация*

<sup>2</sup> *University of Warwick, School of Life Sciences, Coventry, United Kingdom*

*e-mail: Serbina\_elena@bk.ru*

Было показано, что в патогенезе посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) важную роль играет изменение активности тормозной системы префронтальной коры. Префронтальная кора контролирует импульсивное поведение и участвует в реализации когнитивных функций мозга [1, 2]. Данные об изменении торможения в префронтальной коре при стрессовых состояниях противоречивы: имеются сведения, как об уменьшении [3, 4, 5], так и об увеличении активности ГАМКергической системы [6, 7, 8]. В данной работе мы моделировали ПТСР у животных и исследовали, каким образом изменяется активность ГАМКергической системы под воздействием стресса, а также как это отразится на пластичности синапсов префронтальной коры и поведении животных.

Для воспроизведения экспериментальной модели ПТСР на мышах C57BL мы использовали протокол «единичного длительного стресса» (ЕДС) [9]. Формирование стрессового состояния у животных подтверждали по изменениям, которые возникали в поведении животных после воспроизведения протокола ЕДС. Для оценки поведения животных использовали тест «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Чтобы определить каким образом меняется активность ГАМКергической системы при формировании ПТСР, мы при помощи технологии пэтч-кламп регистрировали миниатюрные ингибирующие постсинаптические токи (МИПСТ) в пирамидных нейронах 3 слоя префронтальной коры. Для исследования влияния активности тормозной системы на пластичность синапсов регистрировали полевые возбуждающие постсинаптические потенциалы (пВПСП) в 3 слое префронтальной коры и индуцировали долговременную потенциацию (ДВП) при помощи 20 высокочастотных электрических стимулов.

По результатам оценки поведения животных было подтверждено, что после прохождения протокола ЕДС животные действительно проявляют признаки тревожного стрессового состояния: увеличение смещенной активности, уменьшение локомоторной активности, превалирование норкового инстинкта и снижение исследовательского поведения. При этом поведение контрольной группы не отличалось от результатов тестирования группы ПТСР до воздействия стресса, что свидетельствует об одинаковом психоэмоциональном состоянии животных до начала эксперимента.

Результаты анализа МИПСТ пирамидных нейронов префронтальной коры свидетельствуют о значительном увеличении активности тормозной синаптической передачи у животных подвергшихся воздействию стресса. В группе ПТСР амплитуда и частота МИПСТ была значительно выше, чем в контроле (Рис. 1).

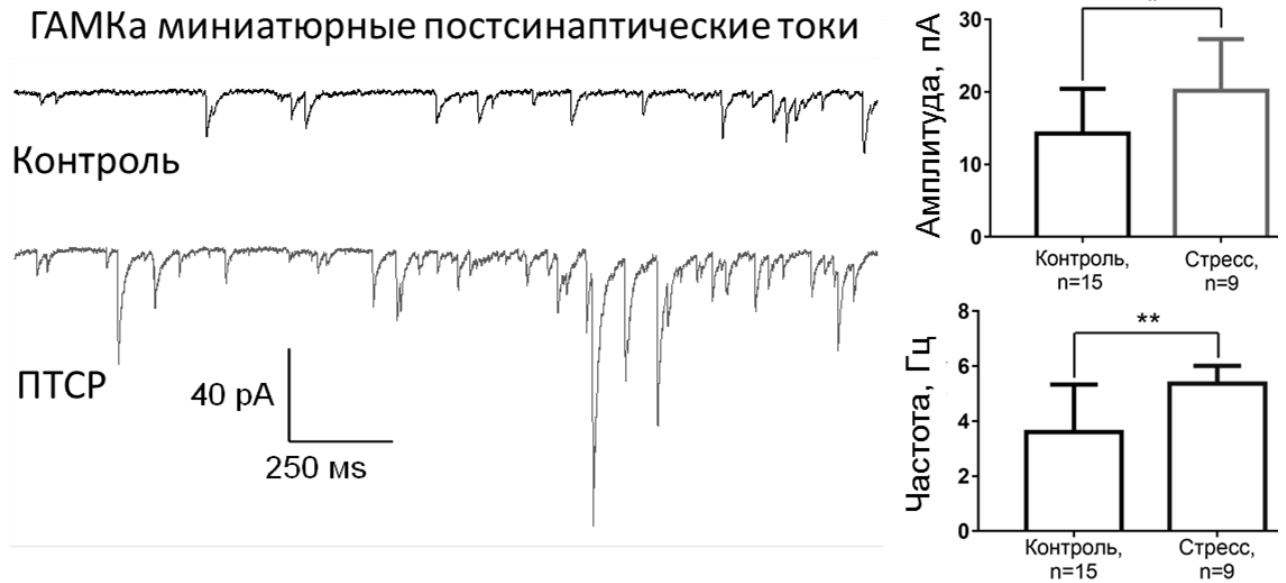


Рисунок 1. Стресс увеличивает активность тормозной синаптической передачи пирамидных нейронов 3 слоя префронтальной коры. Данные представлены в виде  $M \pm SD$ . Где \* -  $p \leq 0.05$ , \*\* -  $p \leq 0.01$  для теста Стьюдента.

Мы также обнаружили, что увеличение активности тормозной синаптической передачи в префронтальной коре мышей с модельным ПТСР негативно влияет на способность синапсов к индукции долговременной потенции (Рис. 2).

### Индукция долговременной потенции синапсов

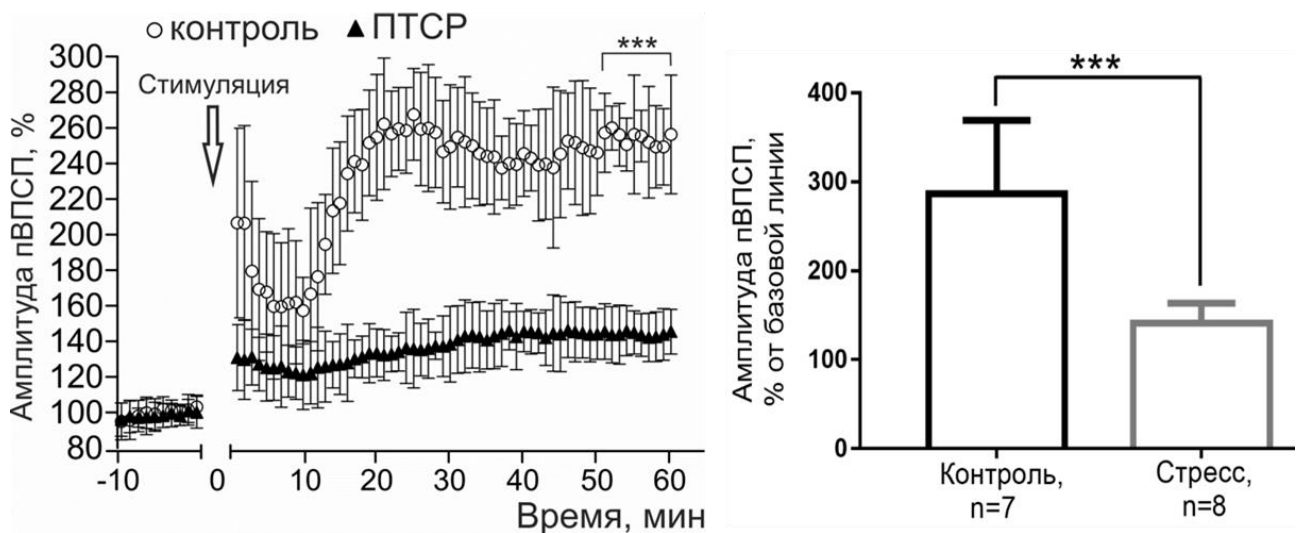


Рисунок 2. Стресс ингибирует способность синапсов к индукции долговременной потенции. Данные представлены в виде  $M \pm SD$ . Где \*\*\* -  $p \leq 0.001$  для теста Стьюдента.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что воздействие стресса вызывает увеличение активности тормозной синаптической передачи в префронтальной коре. Высокая активность тормозной системы препятствует нормальной индукции ДВП синапсов, что наиболее вероятно связано с наблюдаемыми изменениями в поведении животных, сниженным исследовательским интересом и когнитивными способностями.

## Список цитируемой литературы

1. Bremner J.D. Neuroimaging in Posttraumatic Stress Disorder and Other Stress-related Disorders // *Neuroimaging Clin. N. Am.* 2007. Vol. 17 (4). P. 523.
2. Fogaça M. V., Duman R. S. Cortical GABAergic dysfunction in stress and depression: new insights for therapeutic interventions // *Front Cell Neurosci.* 2019. Vol. 13. P. 87.
3. Czéh B. et al. Chronic stress reduces the number of GABAergic interneurons in the adult rat hippocampus, dorsal-ventral and region-specific differences // *Hippocampus* 2015. Vol. 25. P. 393–405.
4. Matsumoto K. et al. GABA(A) receptor neurotransmission dysfunction in a mouse model of social isolation-induced stress: possible insights into a non-serotonergic mechanism of action of SSRIs in mood and anxiety disorders // *Stress.* 2007. Vol. 10(1). P. 3-12.
5. Vaiva G. et al. Low posttrauma GABA plasma levels as a predictive factor in the development of acute posttraumatic stress disorder // *Biological Psychiatry.* 2004. Vol. 55(3). P. 250-254.
6. McKlveen J.M. et al. Chronic stress increases prefrontal inhibition: a mechanism for stress-induced prefrontal dysfunction // *Biol. Psychiatry.* 2016. Vol. 80. P. 754–764.
7. Dubin M.J. et al. Elevated prefrontal cortex GABA in patients with major depressive disorder after TMS treatment measured with proton magnetic resonance spectroscopy // *Psychiatry Neurosci.* 2016. Vol. 41(3). P. 37-45.
8. Michels L. et al. Prefrontal GABA and glutathione imbalance in posttraumatic stress disorder: Preliminary findings // *Psychiatry Research: Neuroimaging.* 2014. Vol. 224. P. 288-295.
9. Yamamoto S. et al. Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder // *Depress. Anxiety.* 2009. Vol. 26 (12). P. 1110–1117.

## ЧАСТИЧНАЯ БЛОКАДА $Na^+ / K^+$ -ПОМПЫ ПРИВОДИТ К ИСЧЕЗНОВЕНИЮ ПРЕИКТАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ, НО НЕ ВЛИЯЕТ НА ИКТАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ В 4-АМИНОПИРИДИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПСИИ *INVITRO*

Д.С. Синяк<sup>1</sup>, Е.Ю. Смирнова<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup>*НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия*

*e-mail: Denisinyak@gmail.com*

Иктальному разряду в 4-аминопиридиновой модели эпилепсии предшествует синхронизация тормозных интернейронов. Возможной причиной перехода от преиктальной активности к иктальной может быть накопление ионов калия во внеклеточном пространстве. Цель - изучить эффект блокады  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  -помпы на процесс перехода от преиктальной активности к иктальной.

Эпилептическая активность, вызванная 4-аминопиридином в срезах энторинальной коры и гиппокампа 3-недельной крысы Вистар, отслеживалась по синаптическим токам репрезентативного нейрона энторинальной коры. Запись постсинаптических токов осуществлялась методом патч-кламп в конфигурации «целая клетка» в режиме фиксации потенциала на -27 мВ.

Для того чтобы оценить действие частичной блокады  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  -помпы, мы изучили динамику изменений следующих характеристик преиктальной активности после аппликации 5  $\mu\text{M}$  оуабаина: амплитуды тормозных постсинаптических токов (ТПСТ), их длительности, числа ТПСТ, а также продолжительности преиктальной активности. Для оценки динамики использовался метод ANOVA с повторными измерениями. Также мы посмотрели эффект блокады помпы на интервал между иктальными разрядами. В контроле, во время преиктальной активности наблюдаются ТПСТ (Рис. 1А), после аппликации оуабаина амплитуда и продолжительность ТПСТ перед иктальным разрядом плавно уменьшается (Рис. 1В).

В результате статистического анализа данных методом ANOVA с повторными измерениями было обнаружено, что частичная блокада NaK-помпы уменьшает амплитуду ТПСТ ( $F_{5, 12} = 5$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 8$ ) и их длительность ( $F_{5, 12} = 15$ ,  $p < 0.001$ ), а также уменьшает продолжительность преиктальной активности ( $F_{5, 12} = 4$ ,  $p < 0.05$ ). Мы также убедились в том, что частичная блокада помпы уменьшает интервал между иктальными разрядами ( $F_{4, 2} = 25$ ,  $p < 0.05$ , рис. 2).

В результате было показано, что частичная блокада NaK – помпы приводит к исчезновению преиктальной активности, при этом не влияет на иктальную активность.

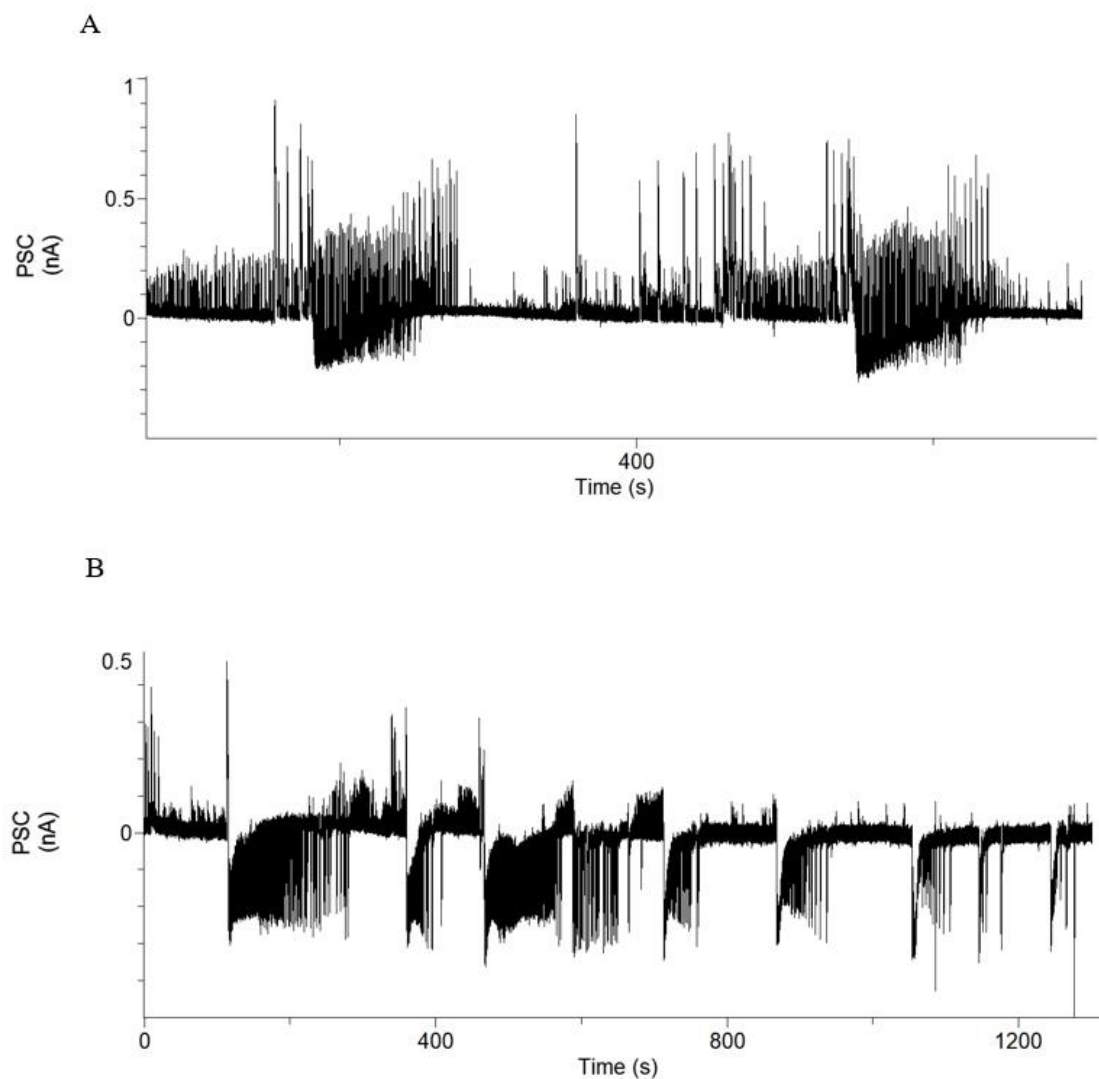


Рис. 1. А. Пример иктальной активности нейрона в глубоких слоях энторинальной коры, приведено два иктальных разряда: во время иктальных разрядов наблюдается выраженная продолжительная спайковая активность, тогда как во время преиктальных разрядов наблюдаются одиночные короткие пачки спайков. В. Пример иктальной активности того же нейрона после аппликации 5  $\mu$ М. оубаина.

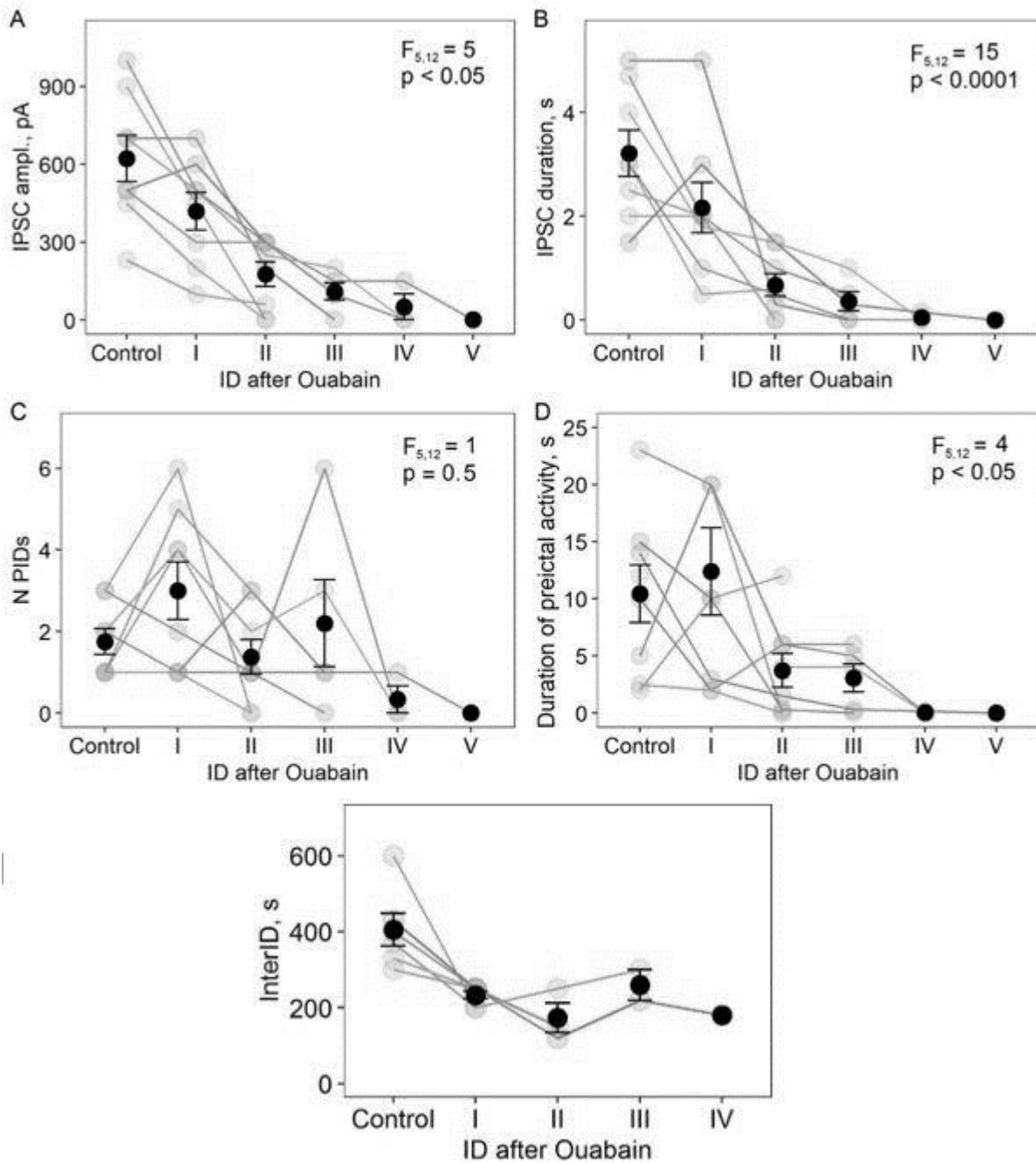


Рис. 2. Динамика характеристик преиктальной активности в 4-аминопиридиновой модели после аппликации 5  $\mu$ M оубаина. А. Амплитуда ТПСТ (IPSCampl.) в контроле (Control), во время преиктальной активности перед первым иктальным разрядом после аппликации оубаина (I), и т.д. Цветные кривые отражают индивидуальные зависимости для разных срезов, тогда как черные точки отражают средние значения по срезам, усы отражают стандартную ошибку среднего. В-В. Аналогичные графики для длительности ТПСТ (IPSCduration), числа ТПСТ во время преиктальной активности (NPIDs) и продолжительности преиктальной активности (Durationofpreictalactivity), соответственно

# ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ НА РАЗВИТИЕ НИКОТИНОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

Стратилов В.А.<sup>1</sup>, Ветровой О.В.<sup>1,2</sup>, Тюлькова Е.И.<sup>1</sup>

*1 Институт Физиологии им. И.П.Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*

*2 Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*

*e-mail: stratilov.v@infran.ru*

В настоящее время вопрос о роли ненаследственных факторов в формировании аддиктивных состояний привлекает к себе большое внимание. Особый интерес представляют исследования молекулярно-клеточных основ аддикций, вызванных стрессорными воздействиями во время эмбрионального развития.

В модели гипоксического стресса, предъявляемого беременным самкам крыс линии Вистар на 14-16 сутки беременности, нами была изучена склонность к формированию никотиновой зависимости у их потомства.

В тесте свободного потребления была показана повышенная склонность к потреблению никотина пренатальногипоксированными (ПГ) взрослыми крысами на 2 неделю тестирования. В то же время в тестах с принудительным введением никотина в течение двух недель посредством осмотических помп, была показана повышенная тяжесть синдрома отмены у ПГ крыс по сравнению с контролем после введения неселективного антагониста никотиновых ацетилхолиновых рецепторов мекамиламина в тесте условнорефлекторной реакции избегания места.

Поскольку развитие никотиновой зависимости прямо опосредуется через дофаминергическую систему, нами было проведено сравнение содержания дофамина в вентральной тегментарной области и префронтальной коре методом иммуноферментного анализа, показавшее отсутствие значимых отличий в количестве дофамина у контрольных и ПГ крыс в возрасте 3 и 18 месяцев. Однако у ПГ крыс было обнаружено увеличенное по сравнению с контролем соотношение белков рDARPP/DARPP вентрального стриатума (рDARPP – фосфорилированный по 34 тирозину белок DARPP). Эти данные косвенно демонстрируют не связанное с изменениями в биосинтезе дофамина усиление активности дофаминергической системы у ПГ крыс.

Ранее нами была показана гиперактивация глутаматергической системы гиппокампа у ПГ крыс. Возможная гиперактивация глутаматергических нейронов, приходящих в вентральную тегментарную область, может играть ключевую роль в развитии никотиновой зависимости, тяжести абстинентного синдрома и общем усилении активности дофаминергической системы, что связано с наличием никотиновых ацетилхолиновых рецепторов на пресинапс глутаматергических нейронов, иннервирующих дофаминергические нейроны вентральной тегментарной области.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-315-90003.



ВВЕДЕНИЕ СРЕДНЕЦЕПОЧЕЧНЫХ ТРИГЛИЦЕРИДОВ ПРИВОДИТ К УЛУЧШЕНИЮ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПАМЯТИ ВЗРАСЛЫХ КРЫС, СОПРОВОЖДАЮЩЕМУСЯ УСИЛЕНИЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ NMDA- И AMPA-РЕЦЕПТОРОВ В КОРЕ МОЗГА  
Трофимов А.Н., Никитина В.А., Крицкая Д.В., Шварц А.П., Вениаминова Е.А., Шавва В.С., Щербакова К.П.

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: alexander.n.trofimov@gmail.com*

Одним из наиболее изучаемых способов коррекции когнитивных нарушений является введение организма в состояние кетоза, при котором в качестве источника энергии клетками используются кетоновые тела, получаемые при окислении жиров. Кетоз достигается при соблюдении кетогенной диеты с преобладанием в рационе жиров и ограничением потребления углеводов, что может приводить к повреждениям различных органов. Потребление среднецепочечных триглицеридов (СЦТ) обеспечивает развитие кетоза без изменения рациона питания и представляется многообещающим способом улучшения когнитивной функции. Ключевым механизмом обучения является усиление синаптической передачи, обеспечиваемое увеличением количества и изменением субъединичного состава ионотропных глутаматных NMDA- и AMPA-рецепторов при развитии долговременной потенциации. Влияние кетоза на состав и количество данных рецепторов требует изучения.

Цель работы – анализ влияния СЦТ на показатели памяти животных и уровень экспрессии генов субъединиц NMDA- и AMPA-рецепторов в медиальной префронтальной коре (мПФК).

Работа проведена с соблюдением Директивы 2010/63/ЕС на половозрелых крысах-самцах Вистар, содержащихся в стандартных условиях. Животных протестировали в Y-образном лабиринте, Открытом поле, тесте «Новые предметы». В течение 2 недель у группы крыс изымали корм на 6 ч/сут и орогастрально вводили 2 мл/кг СЦТ (контроль – корм *ad libitum*, введение воды – группа СД, стандартная диета), затем тесты повторили, добавив водный лабиринт Морриса. По окончании поведенческого тестирования производили диссекцию животных с извлечением мозга и сбором плазмы крови. В крови животных определяли уровень глюкозы, бета-гидроксибутирата (одного из ключевых кетоновых тел) и пирувата. Уровни генной экспрессии определяли методом ОТ-ПЦР. Статистическая обработка проведена с использованием двухфакторного дисперсионного анализа для повторных измерений (rm-ANOVA), t-теста Стьюдента, U-критерия Манна–Уитни,  $p < 0,05$ .

В Y-образном лабиринте наблюдали снижение количества заходов в рукава в повторной сессии независимо от типа диеты (рис. 1А, rm-ANOVA), при этом доля спонтанных альтернатив в группе СД понизилась, а доля чередующихся возвращений в рукава увеличилась, тогда как в группе СЦТ эти показатели не изменились (рис. 1Б, 1В, критерий Сидака), что свидетельствует о положительном эффекте СЦТ-диеты на рабочую память. В открытом поле общая динамика пройденной дистанции не различалась между группами в 6 попытках (рис. 1Г, rm-ANOVA), однако относительно 3-й попытки (последней до начала диеты) животные на СЦТ-диете проходили меньшую дистанцию в последующих попытках с 4 й по 6 ю (15–17-й дни диеты; рис. 1Д, rm-ANOVA; рис 1Е, тест Манна–Уитни), что свидетельствует об угашении локомоторной активности. По обследованию новых предметов различий между группами и сессиями не выявлено. В водном лабиринте Морриса

общая динамика обучения поиску скрытой платформы в первые 4 дня не различалась (рис. 1Ж, *tm*-ANOVA), при этом в тестовой попытке на 5-й день животные, получавшие СЦТ, проводили больше времени в секторе, где была платформа, по сравнению с контролем (рис. 1З, *t*-критерий Стьюдента), что свидетельствует об улучшении пространственной памяти.

В крови животных, получавших СЦТ, выявлено повышение уровня бета-гидроксибутирата по сравнению с контрольными животными. Уровень глюкозы при этом не изменялся относительно контрольной группы, однако обнаруженный более низкий уровень пирувата в крови животных, получавших СЦТ, по сравнению с контролем позволяет предполагать более активное протекание цикла Кребса за счёт использования кетоновых тел, а не пирувата, для синтеза кофермента-А, что позволяет увеличить возможности цикла Кребса за счёт перенаправления пирувата на образование оксалоацетата.

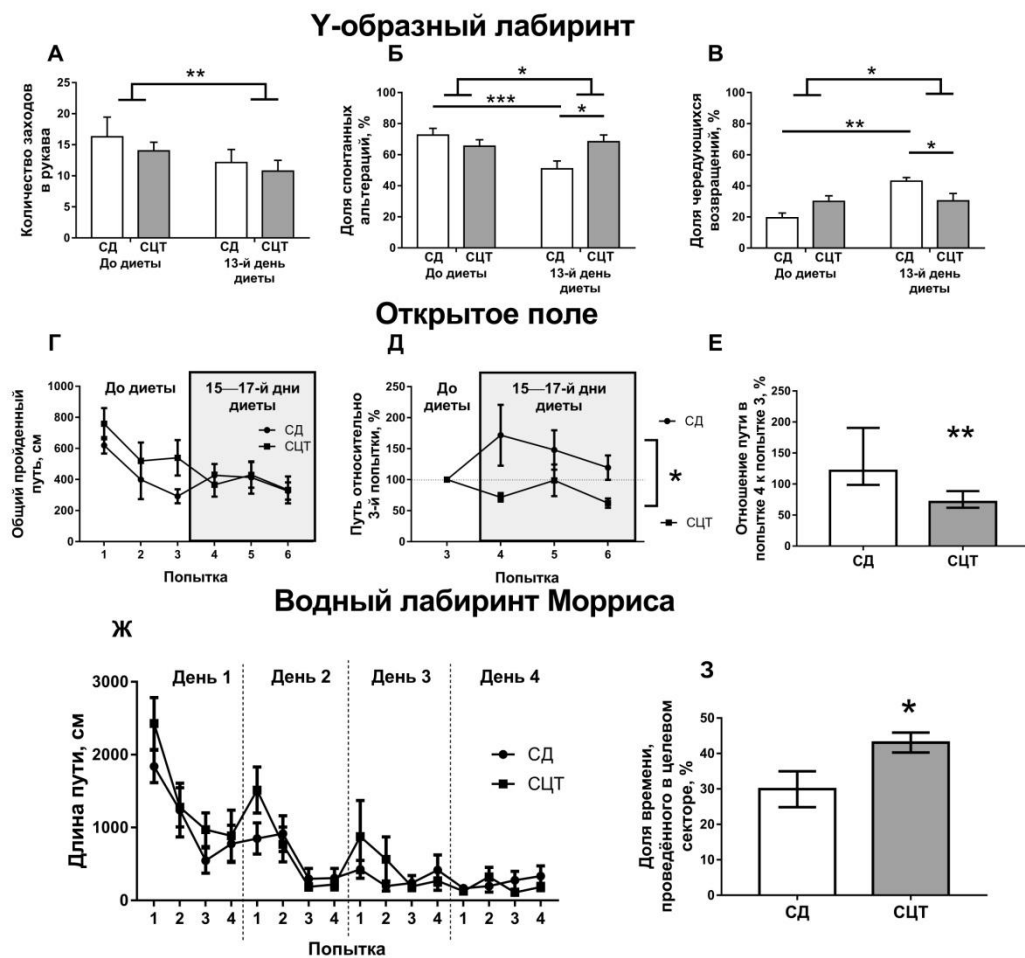


Рис. 1. Введение СЦТ улучшает показатели рабочей памяти в Y-образном лабиринте (А–В), запоминания окружения в Открытом поле (Г–Е) и пространственного обучения Водном лабиринте Морриса (Ж–З).

Проведённый анализ уровня экспрессии генов субъединиц ионотропных глутаматных NMDA- и AMPA-рецепторов в медиальной префронтальной коре выявил увеличение уровня мРНК GluN2a- и GluN2b-субъединиц и снижение отношения GluN2a/GluN2b мРНК NMDA-

рецепторов, а также увеличение уровня экспрессии генов GluA1- и GluA2-субъединиц AMPA-рецепторов в коре животных, получавших СЦТ, по сравнению с контрольными животными. Такие изменения субъединичного состава NMDA-рецепторов и в целом повышении экспрессии генов AMPA-рецепторов в коре характерны при установлении более прочных синаптических связей между нейронами, что может отражать один из молекулярных механизмов положительных эффектов введения СЦТ на показатели памяти и обучения.

Таким образом, введение триглицеридов среднецепочечных жирных кислот в дозах, приводящих к развитию кетоза, требует дальнейшего изучения и может быть предложено в качестве способа улучшения когнитивной функции.

Работа поддержана Российским научным фондом (РНФ, проект № 19-75-10076).

## РОЛЬ СЕРОТОНИНА И МИКРОГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ГИППОКАМПА В ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА

Туркина А.В.<sup>1,2</sup>, Сидорова М.В.<sup>1,2</sup>, Аленина Н.<sup>2</sup>, Тучина О.П.<sup>1</sup>, Клемпин Ф.<sup>2,3</sup>

*1 Институт живых систем, Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия*

*2 Max Delbrück Center for Molecular Medicine Berlin, Germany*

*3 Charité University Medicine Berlin, Germany*

*email: turkin.andreiv@gmail.com*

Нейрогенез - процесс образования нейрональных клеток в головном мозге. Ранее считалось, что нейрогенез ограничивается эмбриональным периодом развития и прекращается после рождения. Однако результаты последних исследований указывают на наличие во взрослом мозге ряда регионов с активным образованием новых нейронов, в первую очередь в гиппокампе, структуре мозга, которая имеет решающее значение в процессах обучения, запоминания, а также хранения новых и обработке старых воспоминаний [1]. Была выявлена важная роль глиальных клеток, таких как микроглия, в регуляции нейрогенеза, где данный тип клеток контролирует дифференциацию, выживаемость, интеграцию нейрональных стволовых клеток (НСК) – предшественников будущих нейронов; элиминирует и перестраивает избыточные синаптические связи встроившихся НСК в существующую нейронную цепь [2, 3].

До сих пор остаются не ясными точные механизмы, лежащие в основе регуляции нейрогенеза микроглиальными клетками. Предполагается, что взрослые нейроны способны напрямую регулировать нейрогенные функции микроглии путем выделения сигнальных молекул, одной из которых, может быть серотонин (5-НТ). Последние исследования показывают не только важную роль серотонина в регуляции нейрогенеза, но и наличие на поверхности культивируемой микроглии рецепторов к серотонину (5-НТ<sub>1</sub>) [4, 5].

В данной работе мы при помощи ПЦР в реальном времени изучали экспрессию генов рецепторов к 5-НТ на клетках микроглии, а также высвобождение нейротрофического фактора мозга BDNF и различных цитокинов в гиппокампе и префронтальной коре крыс самцов дикого типа и с дефицитом триптофангидроксилазы 2 (Trh2<sup>-/-</sup>), лишенных серотонина в головном мозге. Микроглия была получена из тканей гиппокампа и префронтальной коры методом клеточного сортирования (FACS) на 8-й постнатальный день (P),

P21 и P56 для последующего ПЦР анализа. Полученная суспензия клеток также была использована для флуоресцентной визуализации ионов  $Ca^{2+}$  методом проточной цитометрии. Второе из двух полушарий мозга было использовано для иммуногистохимического исследования (ИГХ) стадий нейрогенеза, рецепторов к серотонину и микроглиального маркера CD11 $\beta$ .

Результаты ПЦР-исследования показали наличие экспрессии четырех генов 5-HTR в коре и гиппокампе: 1B, 2B, 5A, 5B. При этом наиболее высокий уровень экспрессии, в каждой возрастной группе, оказался у подтипа рецептора к серотонину 2B, тогда как 5-HT1B присутствует только на P8. Примечательно, что мы наблюдали подавление экспрессии 5-HT5B на P56, что совпадает с повышением экспрессии 5-HT5A на P21. В свою очередь, ИГХ анализ не показал наличия 5-HT2B на поверхности микроглиальных клеток в области гиппокампа и префронтальной коры, однако, мы определили высокий уровень экспрессии исследуемого белка на поверхности нейрональных прогениторных клеток в зубчатой извилине гиппокампа. Мы не выявили изменений кальциевой сигнализации микроглиальных клеток при стимуляции 5-HT2B рецептора после аппликации 5-HT к суспензии клеток.

Используя генетически модифицированных крыс, у которых отсутствует серотонин в ЦНС, мы не обнаружили различий в поляризации (M1/M2) и количественном соотношении микроглиальных клеток по сравнению с контрольной группой. Однако на ранних стадиях развития (P8) процент микроглиальных клеток в гиппокампе Trh2-/- животных был выше, чем у крыс дикого типа, что может говорить о важности 5-HT в развитии других типов клеток головного мозга. ИГХ анализ выявил, что отсутствие 5-HT не влияет на стадии развития и количественное соотношение нейрональных прогениторов. Это может быть связано с повышенным уровнем высвобождения микроглиальными клетками BDNF и пониженным синтезом фактора некроза опухоли альфа. Таким образом, наши данные указывают на многофункциональную зависимость от возраста роль 5-HT рецепторов микроглии в гиппокампе и коре головного мозга, которые могут быть вовлечены в раннее формирование нейронных сетей (5-HT1B) и взрослый нейрогенез (5-HT2B и 5A).

Работа выполнена при поддержке проекта стратегического развития 5-100.

#### Список цитируемой литературы

1. Toda T. et al. The role of adult hippocampal neurogenesis in brain health and disease //Molecular psychiatry. – 2019. – Т. 24. – №. 1. – С. 67-87.
2. Gemma C., Bachstetter A. D. The role of microglia in adult hippocampal neurogenesis //Frontiers in cellular neuroscience. – 2013. – Т. 7. – С. 229.
3. Alenina N., Klempin F. The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis //Behavioural brain research. – 2015. – Т. 277. – С. 49-57.
4. Glebov K. et al. Serotonin stimulates secretion of exosomes from microglia cells //Glia. – 2015. – Т. 63. – №. 4. – С. 626-634.
5. Krabbe G. et al. Activation of serotonin receptors promotes microglial injury-induced motility but attenuates phagocytic activity //Brain, behavior, and immunity. – 2012. – Т. 26. – №. 3. – С. 419-428.

# СТАБИЛЬНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА В МОЗГЕ ЮВЕНИЛЬНЫХ КРЫС В МОДЕЛИ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛ-ИНДУЦИРОВАННОГО ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА.

Шварц А.П., Коваленко А.А., Малыгина Д.А., Зубарева О.Е., Постникова Т.Ю., Зайцев А.В.<sup>1</sup>  
*Институт эволюционной физиологии и бмохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

*e-mail: aleksandr.pavlovich.schwarz@gmail.com*

**Введение.** Анализ относительной экспрессии генов (по отношению к генам домашнего хозяйства) путём количественной ОТ-ПЦР является мощным инструментом биомедицинских исследований. Поиск адекватных генов для нормализации данных количественной ОТ-ПЦР является крайне актуальным. Данная работа посвящена валидации референсных генов для ОТ-ПЦР анализа в мозге крысят в модели последствий однократного эпилептического статуса (ЭС).

**Цель.** Определить наиболее валидные для использования в качестве референсных для нормализации данных количественной ОТ-ПЦР гены домашнего хозяйства в различных областях коры и подкорковых структур головного мозга крысят Вистар в течение недели после пентилентетразол-индуцированного ЭС.

**Материалы и методы.** Судороги индуцировали у 21-дневных крысят введением пентилентетразола (ПТЗ, 70 мг/кг, в/б), для экспериментов отбирали крысят с продолжительными (>30 минут) тонико-клонические судорогами, контрольным животным вводили физраствор. Стабильность экспрессии референсных генов в медиальной префронтальной (мПФК), височной, энторинальной (ЭК) областях коры, амигдале (А) дорзальном (ДГ) и вентральном гиппокампе (ВГ) через 3 и 24 часа, 3 и 7 дней после индукции ЭС оценивали с помощью разработанных авторами оригинальных мультиплексных тест-систем для ОТ-ПЦР в реальном времени (*Actb+Gapdh+B2m*; *Rpl13a+Sdha+Ppia*; *Hprt1+Pgk1+Ywhaz*) с использованием онлайн-инструмента Reffinder, объединяющего 4 алгоритма для определения стабильности экспрессии референсных генов (GeNorm, NormFinder, deltaCt, Bestkeeper).

**Результаты.** Показатели стабильности экспрессии референсных генов были регионспецифичны, они не совпадали даже в различных областях коры и кардинально различались между дорзальной и вентральной областью гиппокампа. Наиболее стабильно экспрессирующимися в течение недели после ПТЗ-индуцированного ЭС по результатам анализа оказались *Pgk1*, *Ppia* и *B2m* в мПФК, *Ppia*, *Rpl13a*, *Sdha* – в ВК, в ЭК – *Pgk1*, *Ppia*, *Rpl13a*; *Sdha*, *Pgk1*, и *Ppia* – в А, *Gapdh*, *Ppia*, *Pgk1* – в ДГ и *Rpl13a*, *Sdha* and *Ppia* – в ВГ. При этом в мПФК, ВК и ДГ средние показатели стабильности экспрессии изученных генов были выше, чем в ВГ, А и ЭК. Следует отметить, что традиционно используемые для нормализации гены *Actb* и *Gapdh* в исследованной модели в большинстве структур мозга непригодны для использования в качестве референсных.

Выводы. Определены региональные особенности стабильности экспрессии референсных генов в мозге ювенильных крыс в течение недели после ПТЗ-индуцированного ЭС. Выбор адекватных референсных генов зависит от анализируемой области мозга, в том числе в пределах разных областей коры и гиппокампа. Эти данные могут быть использованы и другими исследователями при изучении экспрессии генов в пентилентетразоловой модели последствий эпилептического статуса.

Работа поддержана грантом РФФ № 16-15-10202, А.П. Шварц является получателем стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам (СП-743.2019.4).

*Сотрудники ИВНД и НФ РАН*

ИССЛЕДОВАНИЕ СЕЛЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ СТАБИЛЬНО РЕГИСТРИРУЕМЫХ  
НЕЙРОНОВ В МИНДАЛИНЕ КРОЛИКА НА РАЗНООБРАЗНЫЕ ЗРИТЕЛЬНЫЕ И  
СЛУХОВЫЕ СТИМУЛЫ

Васильева Л.Н.\*, Бондарь И.В.

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

\*email: [luvasilieva@mail.ru](mailto:luvasilieva@mail.ru)

Методика хронической нейронной регистрации используется в научных исследованиях более 60 лет. За это время были разработаны различные подходы к изготовлению и имплантации микроэлектродов, позволяющие минимизировать реакцию нервной ткани на присутствие имплантата. Уже в начале 70-х годов появился интерес к наблюдению за активностью одного и того же нейрона длительное время - стабильной регистрации.

Стабильная регистрация существенно повлияет на возможности для исследования. Во-первых, регистрация одних и тех же нейронов длительное время позволяет протестировать их свойства на большом числе разнообразных стимулов. Имея возможность регистрировать более одного дня, можно варьировать не только параметры стимулов выбранной модальности, но и использовать стимулы других модальностей, менять контексты, поведенческие задачи и т.п. Во-вторых, благодаря этой методике можно существенно сократить число животных, необходимых для проведения эксперимента, тогда как количество получаемых данных с одного животного увеличится. В-третьих, от стабильной регистрации выигрывает технология интерфейс "мозг-компьютер", декодирующий программу управления внешним устройством из разрядов одиночных нейронов. Если нейроны присутствуют на записи длительное время, такое устройство в меньшей степени зависит от ежедневного обслуживания инженером для подстройки декодирующего алгоритма.

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

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

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

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

На рис. 1 показаны интервалы стабильной регистрации нейронов у кроликов 1 и 2. Нам удалось зарегистрировать 241 нейрон, который присутствовал на записях 2 дня и более. Максимальная длительность стабильной регистрации составила 307 дней у кролика 2.

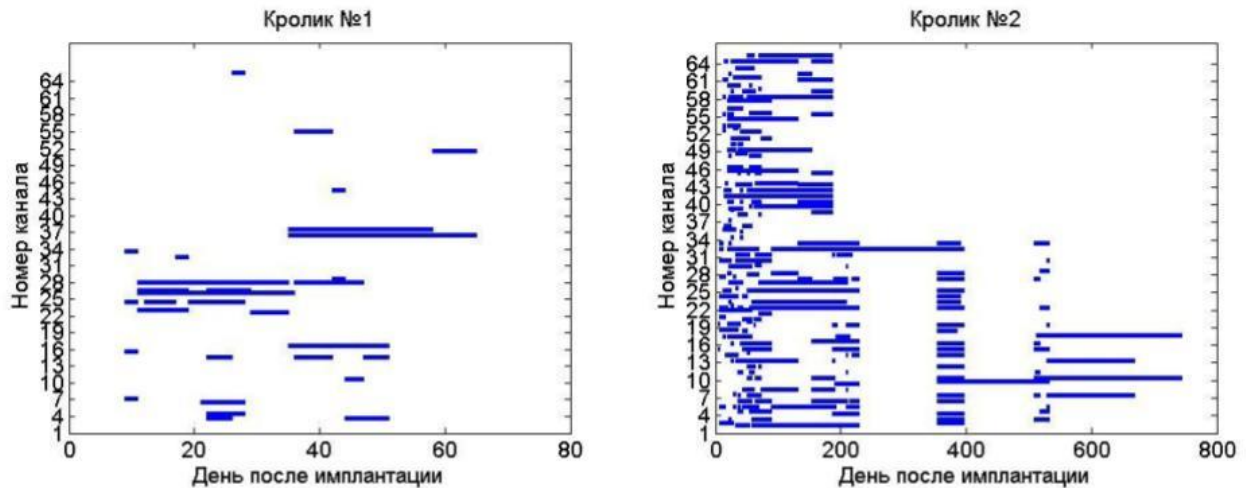


Рисунок 1. Стабильная регистрация на пучках микроэлектродов у кроликов 1 и 2. Синие отрезки отображают периоды стабильной регистрации, обнаруженные с помощью алгоритма Fraser, Schwartz, 2012.

Мы провели регистрацию активности одиночных нейронов на натуралистические зрительные и слуховые стимулы. Нами были обнаружены нейроны, которые реагировали увеличением ответа на предъявление как набора из естественных звуков, так и зрительных стимулов. На рис. 5 изображены ответы нейрона 1 с канала 22. Этот нейрон нам удалось регистрировать в общей сложности в течение 150 дней с 58 по 208 день после имплантации микроэлектродов, что является одной из самых длительных регистраций данной работы. Данный нейрон отвечал на слуховой стимул, а на зрительный ответ отсутствовал (рис. 2).



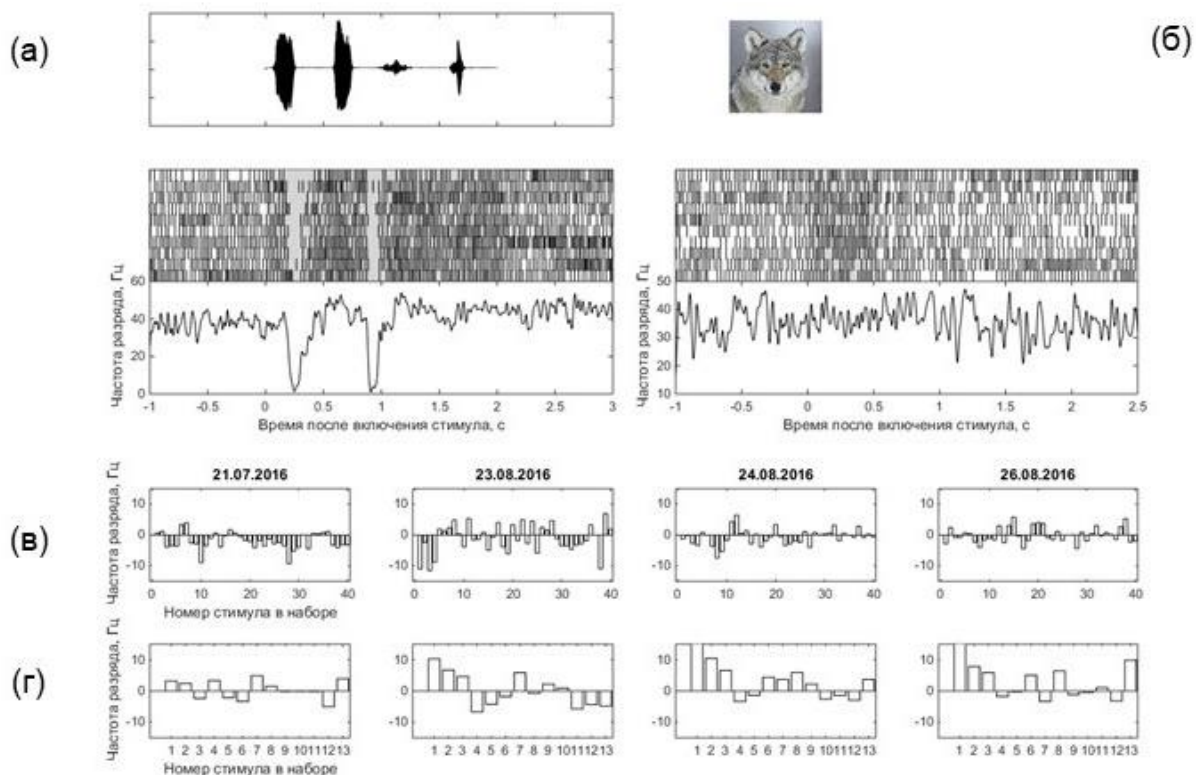


Рисунок 2. Примеры ответов нейрона 1, регистрируемого на канале 22. (а) - ответ представленного нейрона на лай собаки на 187 день после имплантации микроэлектродов. Все три графика построены в едином масштабе времени, по оси абсцисс время после включения стимула. Верхняя панель графика отражает динамику звукового стимула: по оси ординат - амплитуда звукового сигнала. Средняя панель графика - растровая диаграмма ответов нейрона на звук лая собаки. Каждый вертикальный штрих обозначает время детекции спайка на записи. Более ранние предьявления стимула отражены в нижних строках. Серый прямоугольник обозначает временной интервал предьявления стимула. Нижняя панель графика - функция плотности спайков. (б) - ответ нейрона на изображение волка на 208 день после имплантации микроэлектродов. Верхняя панель - зрительный стимул. Средняя и нижняя панели - растровая диаграмма и функция плотности спайков. Масштаб времени для них единый, условные обозначения идентичны графикам подграфика (а). (в-г) - профили селективности нейрона с 21.07.2016 по 26.08.2016. По оси абсцисс номер стимула в наборе. По оси ординат - изменение частоты разряда нейрона в интервале 1 с после включения стимула по сравнению с фоновой активностью в течение 1 с до включения стимула. (в) - профиль селективности на стимулы набора с изображениями хищников и кроликов. (г) - профиль селективности на звуковые стимулы из набора с криками различных животных (Васильева, Бондарь, 2020).

Благодаря использованию микропроволок, позволяющих регистрировать активность одиночных нейронов стабильно, мы смогли охарактеризовать свойства нейронов, обнаруженных на записях. Животным были предьявлены наборы разнообразных зрительных стимулов, а также слуховые стимулы (чистые тоны или натуралистические стимулы). В качестве примеров мы приводили ответы двух нейронов, один из которых был селективен к зрительным стимулам, а другой - к слуховым. При этом ответы на стимулы неpreferred модальности отсутствовали.

Работа частично поддержана грантом РФФИ (№ 19-015-00349\_a) и средствами государственного бюджета по госзаданию на 2019-2021 годы (№ АААА-А17-117092040002-б).

#### Список литературы

1. Васильева Л.Н., Бондарь И.В. Долговременная стабильная регистрация импульсной активности одиночных нейронов в миндалине бодрствующих кроликов // Журнал высшей нервной деятельности. 2020. 70 (4): 528-542.
2. Clopath C., Bonhoeffer T., Hübener M., Rose T. Variance and invariance of neuronal long-term representations. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2017. 372 (1715): 20160161.
3. Fraser G.W., Schwartz A.B. Recording from the same neurons chronically in motor cortex. *J. Neurophysiol.* 2012. 107(7): 1970-1978.

### АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ДОРСАЛЬНОМ И ВЕНТРАЛЬНОМ ОТДЕЛАХ ГИППОКАМПА ПОСЛЕ СТИМУЛЯЦИИ МЕДИАЛЬНОЙ СЕПТАЛЬНОЙ ЗОНЫ

А.П. Белецкий, И. Тюленев, Ю.С. Спивак, Ю.В. Добрякова

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия*  
*\*email:*

Холинергическая система известна своей важностью для нормального функционирования ЦНС, принимая участие в регуляции таких процессов, как внимание, обучение, и память. Нарушения метаболизма ацетилхолина, вызванные дегенерацией нейронов базального ядра Мейнерта, медиального септума и диагональной полоски Брока, сопутствуют различным нейродегенеративным заболеваниям, включающим болезнь Альцгеймера, тяжелые формы болезни Паркинсона и деменции. По своим функциям холинергическая система нередко рассматривается исследователями как модулятор синаптической передачи в возбуждающих и тормозных синапсах или же регулятор ритмической активности нейронных ансамблей неокортекса и гиппокампа. Подобные свойства ацетилхолина подтверждены на множественных электрофизиологических опытах, что делает актуальной задачу исследования стоящих за ними молекулярных кратко- и долговременных изменений в клетках-мишенях.

В данной работе нами был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов и некодирующих РНК в дорсальном и вентральном гиппокампе после активации холинергического входа из медиальной септальной области в гиппокамп. Все эксперименты были выполнены на грызунах (крысах), которым в область медиального септума был вживлен стимулирующий электрод. Через 2 недели после вживления крыс контрольной и экспериментальной группы помещали в камеру и подключали к стимулятору. Экспериментальные животные получали стимуляцию медиальной септальной зоны в тета-диапазоне (4 Гц) в течение 1 часа. Контрольные животные не получали стимуляции. Декапитация и выделение дорсальной/вентральной частей гиппокампа производились спустя

1 ч. после окончания стимуляции. Полученная из образцов мозга тотальная РНК была подвергнута деплеции рРНК и использована для подготовки библиотек кДНК с последующим секвенированием. По получении результатов секвенирования, данные прочтений по каждому образцу (формат fastq) были очищены от остаточных адаптерных последовательностей и рРНК, картированы на геном крысы (версия gn6) и подсчитаны на уровне генов. В качестве референса для такого подсчета использовалась комбинированная аннотация к геному (аннотация базы ENSEMBL, базы повторов, эндогенных ретровирусов и транспозонов RepeatMasker, а также аннотация, созданная de novo на основе полученных нами прочтений).

С целью определения специфики холинергических влияний на различные области гиппокампа (вентральный/дорсальный), первым было проведено сравнение самих контрольных образцов между собой. В результате, было выявлено значимое преобладание серотонинергических (ср.  $p.adj < 2.727193e-05$ ), дофаминергических ( $p.adj < 0.027731035$ ) и, собственно, холинергических рецепторов ( $p. Adj < 6.915274e-03$ ) в вентральном гиппокампе, в сравнении с дорсальным. Дорсальный гиппокамп, в свою очередь, имел большую представленность ряда ключевых синаптических регуляторов: киназ семейства Camk (Camk2a, 0.0004  $p.adj$ , Camk2b, 4.912251e-06  $p.adj$ ), субъединицы NMDAR (Grin2a, 1.263588e-05  $p.adj$ ) и т. д. Кроме того, в вентральном гиппокампе было отмечено значительно большее число транскриптов ( $\sim x2$ ) транспозонов различных семейств (LINE, LTR, SINE), обнаруженных на основе сборки их транскриптов de novo.

Изменения в экспрессии генов дорсального гиппокампа в ответ на стимуляцию затронули около 600 генов, экспрессия большей части которых возрастала. Эта группа генов включала в себя такие категории генов, как “Везикулярный транспорт” (-18.99 LogP), “Организация мембраны” (-14.17 LogP), “Аксон-дендритный транспорт” (-12.88 LogP) (по данным “геномной онтологии”/GO). Изменения в вентральном гиппокампе имели трехкратное превосходство над дорсальным по числу дифференциально экспрессирующихся генов ( $\sim 2$  т.), характеризовались выраженным снижением экспрессии (1700 генов) и, так же, преобладанием среди них категорий синаптической регуляции. Еще более многочисленной подгруппой среди данных генов стали транскрипты транспозонов ранее упомянутых семейств LTR, SINE, LINE с наибольшим преобладанием (по числу локусов) последнего. Гены с растущей экспрессией были, по преимуществу, представлены категориями “Пролиферация” (-4.768 LogP), “Клеточный цикл” (-4.676 LogP), “Миелинизация/глиальная экспрессия” (-13.758 LogP).

Подобные данные могут служить свидетельством многостороннего транскрипционного ответа двух областей гиппокампа в ответ на холинергическую стимуляцию, имеющего, предположительно, реципрокный характер (“падающие” vs. “растущие” гены синаптической активности в вентральном и дорсальном гиппокампах, соответственно), а также способного к модуляции экспрессии мобильных, как правило, “паразитарных”, элементов генома.

## АЙТРЕКИНГ В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПАЦИЕНТОВ С УГНЕТЕННЫМ СОЗНАНИЕМ

Вигасина К.Д.<sup>1</sup>, Шарова Е.В.<sup>1</sup>, Александрова Е.В.<sup>2</sup>, Каверина М.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва;

<sup>2</sup>ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им.ак. Н.Н.Бурденко» Минздрава России, Москва;  
email:

Пациенты с нарушениями сознания после тяжелой черепно-мозговой травмы (ТЧМТ) зачастую недоступны вербальному контакту, что существенно затрудняет оценку их реальных функциональных возможностей. В этой связи актуальным и перспективным направлением в отечественной и зарубежной нейрофизиологии представляется разработка и применение оригинальных методик коммуникации (Naude, 2005), к числу которых относится айтрекинг – технология отслеживания направления взгляда (Holmqvist, 2011).

Приводятся результаты айтрекинг-исследования пациента Д. 30 лет, состояние которого спустя 8 лет после ТЧМТ (диффузное аксональное повреждение головного мозга с множественными геморрагическими очагами в больших полушариях, подкорковых и стволовых структурах, посттравматическая гидроцефалия) оценивалось клинически как минимальное сознание минус с грубым преимущественно левосторонним тетрапарезом. Во время эксперимента пациент сидел в специальном кресле, на столике перед ним располагался ноутбук с зафиксированным перед монитором айтрекером (Tobii EyeTracker 4с, частота дискретизации – 60 Гц, точность – 0,5°). Испытуемому в случайном порядке предъявлялся набор из 10 парных карточек следующего содержания: «колодец – деревянный дом», «мама – другая женщина», «айкидо – горные лыжи» и другие. Одно изображение находилось в левой части монитора, другое в правой. Экспериментатор давал инструкцию: «выбери взглядом городское здание», «выбери взглядом маму» и другие. Длительность предъявления каждой карточки–10 секунд.



Рис. 1. Карта внимания (Attention map), иллюстрирующая направление взгляда пациента (области максимального внимания выделены красным). Инструкция: «Выбери взглядом деревянный дом».

В 90% случаев испытуемый отвечал на вопрос, удерживая взгляд в половине монитора, соответствующей правильному ответу. Общая длительность всех фиксаций взгляда на картинке, соответствующей правильному ответу–от 6.1 до 8.4 секунд. Полученные данные позволяют оценить стадию восстановления психической деятельности пациента Д. как пограничную между мутизмом с пониманием речи и речевой дезинтеграцией (Доброхотова с

соавт., 1996), более высокую по сравнению с исходной оценкой. Это подтверждает диагностическую информативность айтрекинга как метода объективизации функциональных возможностей пациентов с нарушениями сознания и коммуникации.

Список цитируемой литературы:

1. Обратимые посткоматозные бессознательные состояния / Т. А. Доброхотова, А. А. Потапов, О. С. Зайцев, Л. Б. Лихтерман // Социальная и клиническая психиатрия. — 1996. — Т. 6, № 2. — С. 26–36.
2. Holmqvist K. et al. Eye tracking: A comprehensive guide to methods and measures. – OUP Oxford, 2011.
3. Naudé K., Hughes M. Considerations for the use of assistive technology in patients with impaired states of consciousness //Neuropsychological Rehabilitation. – 2005. – Т. 15. – №. 3-4. – С. 514-521.

ИНТЕРФЕЙС МОЗГ-КОМПЬЮТЕР НА ОСНОВЕ СПЕКТРОСКОПИИ В БЛИЖНЕМ  
ИНФРАКРАСНОМ ДИАПАЗОНЕ. ОСОБЕННОСТИ ОБРАБОТКИ СИГНАЛА ДЛЯ  
УЛУЧШЕНИЯ РАСПОЗНАВАНИЯ МЕНТАЛЬНЫХ ЗАДАЧ В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ.

Исаев М.Р.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия;  
shycmupuk@yandex.ru

Спектроскопия в ближнем инфракрасном диапазоне (БИКС) — это метод, который относительно недавно начали использовать для регистрации гемодинамической активности мозга. В данной работе на основе БИКС был построен интерфейс мозг-компьютер (ИМК) и проведены эксперименты на здоровых испытуемых по управлению ИМК с помощью представлений движений руками. Изучались методы обработки сигнала, позволяющий увеличить качество распознавания ментальных состояний. Показано, что учёт периодичности предъявления инструкций и соответствующая фильтрация сигнала позволяют значительно улучшить качество классификации. Также, в случае недостаточного объёма выборки в рамках одного эксперимента, качество классификации можно достоверно увеличить за счёт дообучения классификатора на других экспериментальных сессиях того же испытуемого. Также предложен алгоритм выделения признаков, имеющий возможность работать в режиме реального времени. Указанные методы позволяют значительно улучшить распознавание ментальных состояний в интерфейсах мозг-компьютер на основе спектроскопии в ближнем инфракрасном диапазоне, а вместе с этим и возможную процедуру реабилитации постинсультных и посттравматических больных.

## ВЛИЯНИЕ СУДОРОЖНОСТИ АКТИВНОСТИ, ВЫЗВАННОЙ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛОМ, НА ЭКСПРЕССИЮ ПРО И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В МОЗГЕ КРЫСЫ.

А.А. Карань, Ю.С. Спивак, Л.М. Сулейманова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва  
admin@ihna.ru

Эпилепсия - это синдром, характеризующийся повторными приступами с нарушением двигательных, чувствительных, вегетативных и др. функций, возникающими вследствие чрезмерной нейрональной активности, распространяющейся по головному мозгу. Данное заболевание включает три основных аспекта: электрофизиологический, морфологический (например, нейродегенерация) и судорожный, которые по-разному воспроизводятся и исследуются на животных моделях. Целью данной работы было исследование того, может ли эпилептиформная активность, вызванная инъекцией конвульсанта пентилентетразола (PTZ) [1], индуцировать нейровоспалительный ответ. В частности, зависит ли величина этого ответа от интенсивности эпилептиформной активности, а также, модулируется ли нейровоспалительный ответ каннабиноидными CB2 рецепторами.

Данная работа включает 2 эксперимента. В первом использовались образцы левых вентральных гиппокампов (VHL), левых дорсальных гиппокампов (DHL), соматосенсорной коры, твердой мозговой оболочки (DM), кортикальной оболочки (CM), гиппокампальной оболочки (HM), селезенки из 71-ой крысы линии Wistar. Две группы крыс состояли из контрольных животных (инъекция физиологического раствора), животных после инъекций малой (40 мг/кг) или большой дозы (70 мг/кг) PTZ, и их сбор проводился через 3 и 6 часов после инъекции. Третья группа включала контрольных животных (инъекция большой дозы (70 мг/кг) PTZ) и животных после инъекции большой дозы (70 мг/кг) PTZ и агониста каннабиноидных CB2 рецепторов HU308. Во втором эксперименте использовались образцы VHL, DHL, правых вентральных гиппокампов (VHR), правых дорсальных гиппокампов (DHR), соматосенсорной коры, CM, селезенки из 21-ой крысы линии Wistar. В данном эксперименте была лишь одна группа крыс, включающая в себя контрольных крыс (инъекция большой дозы (70 мг/кг) PTZ) и животных после инъекции большой дозы (70 мг/кг) PTZ и антагониста каннабиноидных CB2 рецепторов AM630. Каждая проба проходила этапы гомогенизации, выделения тотальной РНК, обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (rtPCR) для определения экспрессии генов домашнего хозяйства и некоторых маркеров воспаления.

При статистической обработке с использованием теста Краскела-Уоллиса мы обнаружили, что во всех исследованных структурах мозга абсанс-подобная эпилептиформная активность, вызванная низкой дозой PTZ, не приводила к достоверным изменениям в экспрессии типичных для нейровоспаления маркеров. Интенсивная же эпилептиформная активность, индуцированная высокой дозой PTZ, приводила к достоверному изменению экспрессии нескольких маркеров воспаления, в частности, к росту экспрессии CCL2 в левых дорсальном и вентральном гиппокампах, в соматосенсорной коре и в кортикальной оболочке через 3 часа после инъекции, IL6 в дорсальном левом гиппокампе через 3 часа и соматосенсорной коре через 6 часов, TNF $\alpha$  в соматосенсорной коре через 3 и 6 часов, а также к достоверному снижению экспрессии TGF $\beta$ 1 к кортикальной оболочке через 3 часа.

Эти изменения, вызванные интенсивной эпилептиформной активностью, отличаются по продолжительности. Рост экспрессии CCL2, наблюдаемый через 3 часа, через 6 часов исчезал. Повышение экспрессии IL6 исчезало в дорсальном левом гиппокампе через 6 часов, но только появлялось в это время в соматосенсорной коре, рост концентрации мРНК TNF $\alpha$  в соматосенсорной коре сохранялся в обеих исследуемых временных точках, пониженная экспрессия TGF $\beta$ 1 к кортикальной оболочке, наблюдаемая через 3 часа после инъекции, исчезала через 6 часов.

Активация CB2 рецепторов с помощью HU308 привела к небольшому ослаблению нейровоспалительного ответа в гиппокампе и соматосенсорной коре через 3 часа, блокада же

CB2 рецепторов с помощью AM630 привела к усилению нейровоспаления в гиппокампе через 3 часа, что проявляется в повышении экспрессии IL1 $\beta$  в левом и правом дорсальном и вентральном гиппокампах.

Эти данные говорят о небольшой продолжительности нейровоспалительного ответа, вызванного интенсивной эпилептиформной активностью, контроле продолжительности вплоть до подавления развития этого ответа при активации каннабиноидных CB2 рецепторов.

1. Dhir, A. (2012). Pentylentetrazol (PTZ) Kindling Model of Epilepsy. Current Protocols in Neuroscience. John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0937s58>

## **Взаимодействие основных источников электрической активности мозга в процессе воображения и выполнения движений**

Керечанин Я.В.1, Бобров П.Д.1, Душан Г.2

1.Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия

2.Институт информатики АН ЧР, Прага, Чехия

**Источники электрической активности мозга выделены с помощью метода независимых компонент с автоматической фильтрацией артефактов при помощи вейвлет-разложения (AWICA) и отобраны по частоте встречаемости у отдельных испытуемых. Рассмотрено 175 экспериментальных сессий 10 испытуемых-добровольцев по управлению интерфейсом мозг-компьютер (ИМК), основанном на воображении движений. Для источников, включенных в 7 наибольших кластеров, построена VAR модель. На основе коэффициентов VAR моделей установлено наличие и направление взаимосвязи между данными источниками.**

### **1 Введение**

На текущий момент ЭЭГ широко применяется для фундаментальных исследований принципов работы мозга. И хотя такие инструменты анализа ЭЭГ как метод независимых компонент (ICA) уже давно нашли свое применение для поиска фокусов активности мозга во время выполнения специфических ментальных задач, взаимодействие этих источников почти никогда не рассматривается. Целью данной работы является устойчивое выделение наиболее часто встречающихся источников ЭЭГ, активных во время работы ИМК, основанном на воображении движений, и анализ их ненаправленного и направленного взаимодействия.

### **2 Методы**

Метод AWICA (automatic wavelet independent component analysis) является комбинацией вейвлет-разложения неоднородного во времени сигнала и разделения активности данного сигнала на независимые компоненты. Вейвлет-разложение представляет собой набор линейных фильтров, разбивающих сигнал на ортогональные(нескоррелированные) составляющие, при этом



спектральные свойства каждой из вейвлет-составляющих сконцентрированы вокруг определенной несущей частоты вейвлета. Таким образом, многоканальный сигнал ЭЭГ  $X = \{X_1(t), X_2(t) \dots X_N(t)\}^T$ , где  $N$  - число электродов, раскладывается на вейвлет-компоненты, образуя новый многомерный сигнал  $WC = \{WX_{11}(t), WX_{12}(t), \dots WX_{NM}(t)\}^T$ , где  $M$  - порядок вейвлет-разложения. Представление исходного сигнала в такой форме позволяет эффективно разделить полезную и шумовую (артефактную) составляющие. Для выделения вейвлет-источников из сигнала  $WC$  используется метод FASTICA. Полученные вейвлет-источники  $WS = A \cdot WC$  по нескольким автоматическим критериям делятся на артефактные и нет, после чего артефактные источники зануляются. Отфильтрованные таким образом вейвлет-компоненты  $WC' = inv(A)WS'$  с помощью обратного вейвлет-разложения собираются снова в сигнал ЭЭГ  $X'$ , после чего из очищенной ЭЭГ  $X'$  методом FASTICA выделяются источники ЭЭГ  $S = V \cdot X'$ .

Для оценки взаимодействия источников использовалось построение векторной авторегрессионной модели (VAR). VAR приближает многоканальный сигнал  $X(t)$  через его значения в  $p$  предыдущих отсчетов времени:

$X(t) = A_1 X(t-1) + A_2 X(t-2) + \dots + A_p X(t-p) + \eta(t)$ , здесь  $p$  - порядок модели. В данной работе порядок  $p$  был выбран равным 100, что соответствует максимальному лагу модели в 400 мс.

Коэффициенты  $A_i$  и ковариационная матрица остаточного шума  $C = cov(\eta)$  вычисляются по методу наименьших квадратов. Передаточные коэф.  $A_i$  позволяют оценить величину и направление взаимодействия между каналами (источниками), в том числе и в частотном представлении, используя волновую матрицу  $A(w)$ :

$$A(w) = \left( \sum_{k=1..p} A_k e^{-iwt\tau} \right)^{-1}, \text{здесь } \tau \text{ -периодичность отсчетов ЭЭГ. Для оценки ненаправленного}$$

взаимодействия использовалась функция спектральной когерентности:

$$Coh(w)_{ij} = \frac{|S(w)_{ij}|}{|S(w)_{ii}| \cdot |S(w)_{jj}|}$$

$$S(w) = A(w)^{-1} C A(w)^{-1}$$

Для оценки направленного взаимодействия применялась функция изолированной спектральной когерентности.

$$iCoh_{i \leftarrow j}(w) = \frac{S(w)_{ii}^{-1} |[A(w)]_{ij}|^2}{S(w)_{ii}^{-1} |[A(w)]_{ij}|^2 + S(w)_{jj}^{-1} |[A(w)]_{ij}|^2}$$

### 3 Результаты

В работе рассматриваются 7 паттернов (Рис.1), наиболее часто встречающиеся среди всех испытуемых и полученные методом кластеризации ANNIA, отсортированные по частоте встречаемости

соответствующих им источников. Усреднение по всем испытуемым показывает, что наиболее часто встречается влияние (то есть, модуляция активности) источника 2 (локализован в соматосенсорной коре левого полушария) на источник 1 (локализован в премоторной коре левого полушария), а также влияние источника 5 (соматосенсорная кора правого полушария) на источник 7 (премоторная кора правого полушария) (Рис.2). Вне зависимости от наличия или отсутствия взаимодействия между источниками, все они регулярно выделяются у испытуемых в сессиях по управлению ИМК основанном на воображении движений.

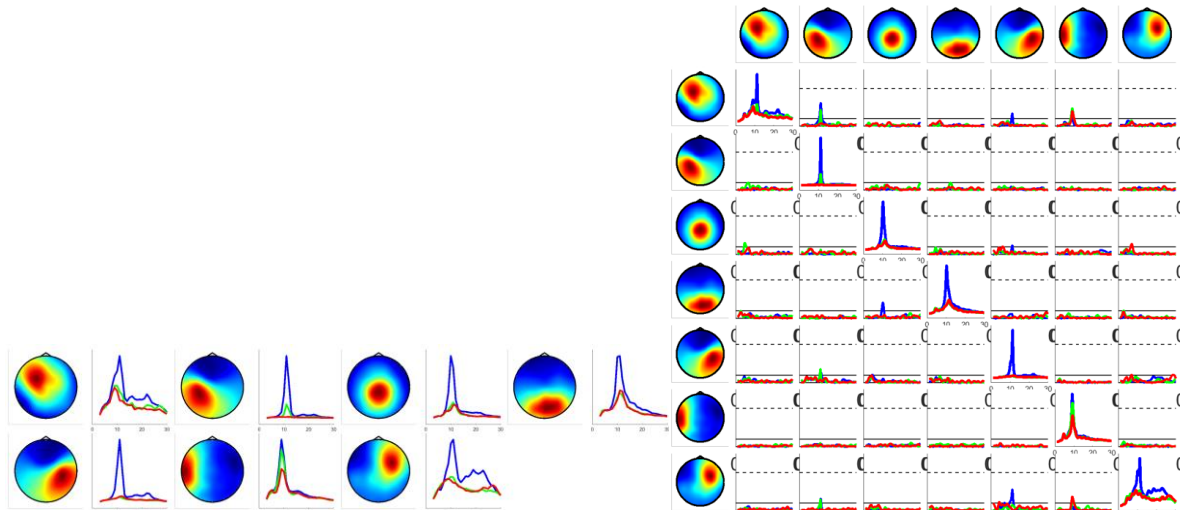


Рис. 1. Средние топографические карты и среднеспектральные плотности активностей компонент в первых 7 кластерах. Спектральные плотности показаны в условных единицах в диапазоне частот от 1 до 30 Гц для трех выполняемых заданий: синий цвет - покой, зеленый цвет - воображение движения кисти левой руки, красный цвет - правой руки.

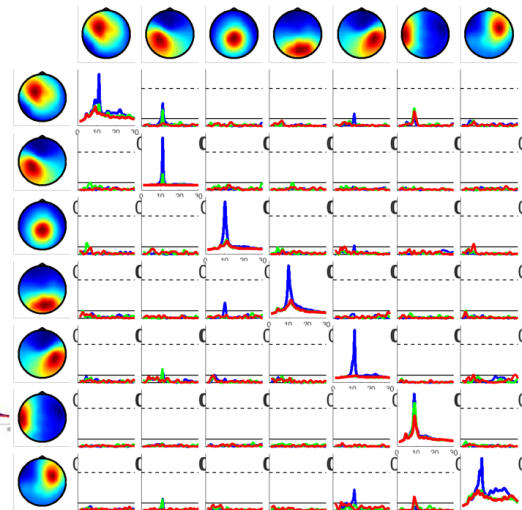


Рис. 2. Спектральная когерентность между выбранными источниками ЭЭГ. В ячейке на пересечении  $i$ -го столбца и  $j$ -той строки отражено направленное взаимодействие источника  $i$  и источника  $j$ . По диагонали находятся автоспектры источников. Сплошная линия -

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВАРИАбельНОСТИ ПОВЕДЕНИЯ САМЦОВ И САМОК КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

Посицельская Е.С.<sup>1,2</sup> (рук. Баль Н.В.<sup>1</sup>, Винарская А.Х.<sup>1</sup>)

*1 ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия,*

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

Исследование факторов, влияющих на поведение животных, является важной задачей, поскольку индивидуальные различия оказывают большое влияние на значения, получаемые в поведенческих тестах, что, в свою очередь, сильно влияет на изучение влияния фармакологических препаратов и/или физиологических и других воздействий, оказываемых на животных (Павлова И.В., М. П. Рысакова, 2015; Степаничев М.Ю. и др., 2016). В ходе настоящей работы мы анализировали поведение самцов и самок крыс линии Вистарс применением метода главных компонент, чтобы выявить поведенческие характеристики, которые определяют вариабельность животных, и сравнить значения у самцов и самок крыс, а также у молодых (возрастом менее 6 мес) и зрелых (от 6 до 9 мес) самцов крыс. Также поведение животных сравнили по отдельным поведенческим тестам.

В ходе исследования было проанализировано три группы: 66 самцов возрастом от 4 до 5 месяцев, 26 самцов возрастом от 6 до 9 месяцев и 39 самок возрастом от 6 до 9 месяцев. Животных приучали к рукам, после чего тестировали в течение 2 дней. В первый день крыс сначала тестировали в открытом поле (ОП), через несколько часов сажали в закрытую камеру. Во второй день крыс сначала тестировали в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), и затем также в закрытой камере. Наблюдения за животными ранее показали, что некоторые самцы крыс линии Вистарс при посадке в закрытую камеру для последующего исследования контекстного условно-рефлекторного страха демонстрируют увеличение уровня замирания без предъявления отрицательного стимула в виде электрокожной стимуляции, что оказывает влияние на последующие исследование условно-рефлекторного страха.

Анализ различных показателей в поведенческих тестах показал различия как между самцами и самками, так и между самцами более молодого и старшего возраста. Мы обнаружили, что средняя скорость в открытом поле больше у самок выше, чем у самцов (медианы составляют 7,2 см/с у самок и 6,3 см/с у самцов,  $p$ -value=0.017). Также обнаружены различия по времени, проведённому в центральной части открытого поля (медианы составляют 4,5 с у самок против 6,6 с у самцов,  $p$ -value=0.016).

Сравнение самцов разного возраста показало значимое отличие в проценте замирания в первый день в закрытой камере. Самцы более старшего возраста показали более высокий уровень замирания (медиана составляла 16,5% против 7,5%,  $p$ -value=0.003).

Кроме того, были проанализированы значения разных поведенческих характеристик в данных тестах методом главных компонент. Было выделено 4 главные компоненты с порогом более 5% объяснённой дисперсии. Первая компонента в основном связана с двигательной и, возможно, исследовательской активностью, так как она положительно коррелирует со средней скоростью движения как в ПКЛ, так и в открытом поле, а также с частотой выглядывания в ПКЛ. Вторая компонента связана с показателями, выделяемыми рядом исследователей как признаки тревожности/смелости. Так, компонента 2 положительно коррелирует с временем, проведённым в открытом рукаве в ПКЛ, и отрицательно – с количеством умываний в ПКЛ. Компонента 3 положительно коррелирует со временем

нахождения в центре открытого поля и отрицательно – со временем нахождения в открытом рукаве ПКЛ. Компонента 4 положительно коррелирует со временем нахождения на краю открытого поля и отрицательно – с грумингом в открытом поле. Сравнение групп по главным компонентам показало, что наблюдается тенденция к тому, что самки имеют более высокий показатель данной компоненты ( $p=0,07$ ), что может косвенно указывать на более высокий уровень моторной активности. Это согласуется с данными о более высокой средней скорости движения в ПКЛ, о которой сказано выше. Также наблюдается тенденция к более высокой средней скорости движения в ПКЛ у самок по сравнению с самцами (медиана составляет 3,35 см/с против 2,68 см/с;  $p=0,057$ ). Также мы обнаружили достоверные различия между самцами и самками по 4 компоненте, хотя физиологический смысл данной компоненты в настоящий момент не полностью ясен.

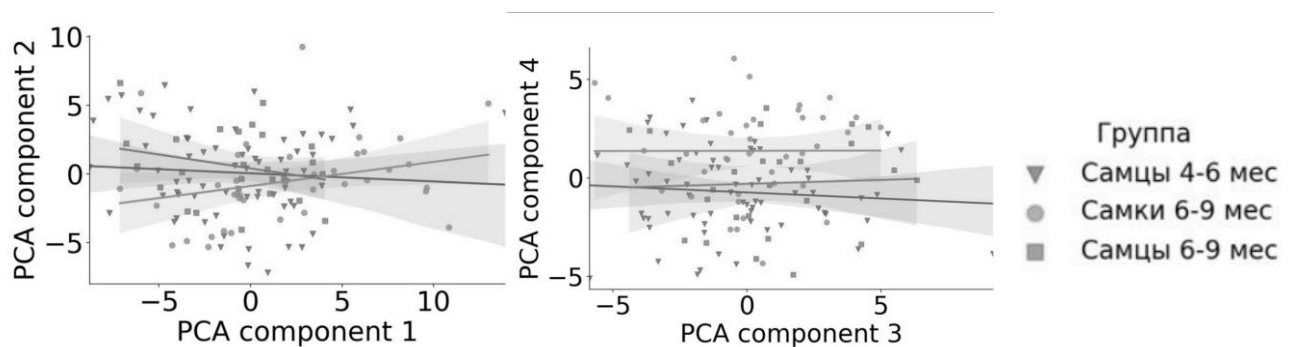


Рис.1. Распределение животных по осям четырех компонент.

Таким образом, в настоящей работе мы обнаружили, что самцы и самки возрастом 6-9 месяцев отличаются, в первую очередь, по своей двигательной активности. Другие поведенческие характеристики показывают сложную картину, требующую дополнительного анализа.

#### Список цитируемой литературы

Павлова И.В., М. П. Рысакова Проявление тревожности крыс вистар при выработке условнорефлекторного страха // Журнал высшей нервной деятельности, 2015, том 65, № 5, с. 1–16.

Степаничев М.Ю. и др. Эффекты хронического комбинированного стресса: изменения поведения крыс с разной реакцией на новизну // Журнал высшей нервной деятельности, 2016, том 66, № 5. С.611-625.

Stead JD, Clinton S, Neal C, et al. Selective breeding for divergence in novelty-seeking traits: heritability and enrichment in spontaneous anxiety-related behaviors // Behavior Genetics, Vol. 36, No. 5, 2006.

Landgraf R. and Wigger A. High vs Low Anxiety-Related Behavior Rats: An Animal Model of Extremes in Trait Anxiety // Behavior Genetics, Vol. 32, No. 5, September 2002.

# РЕАКЦИЯ НЕЙРОНОВ СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ НА СТИМУЛЯЦИЮ ВЕНТРО-ПОСТЕРО-МЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ТАЛАМУСА У КРЫС ЛИНИИ WAG/Rij

Д.А.Цветаева

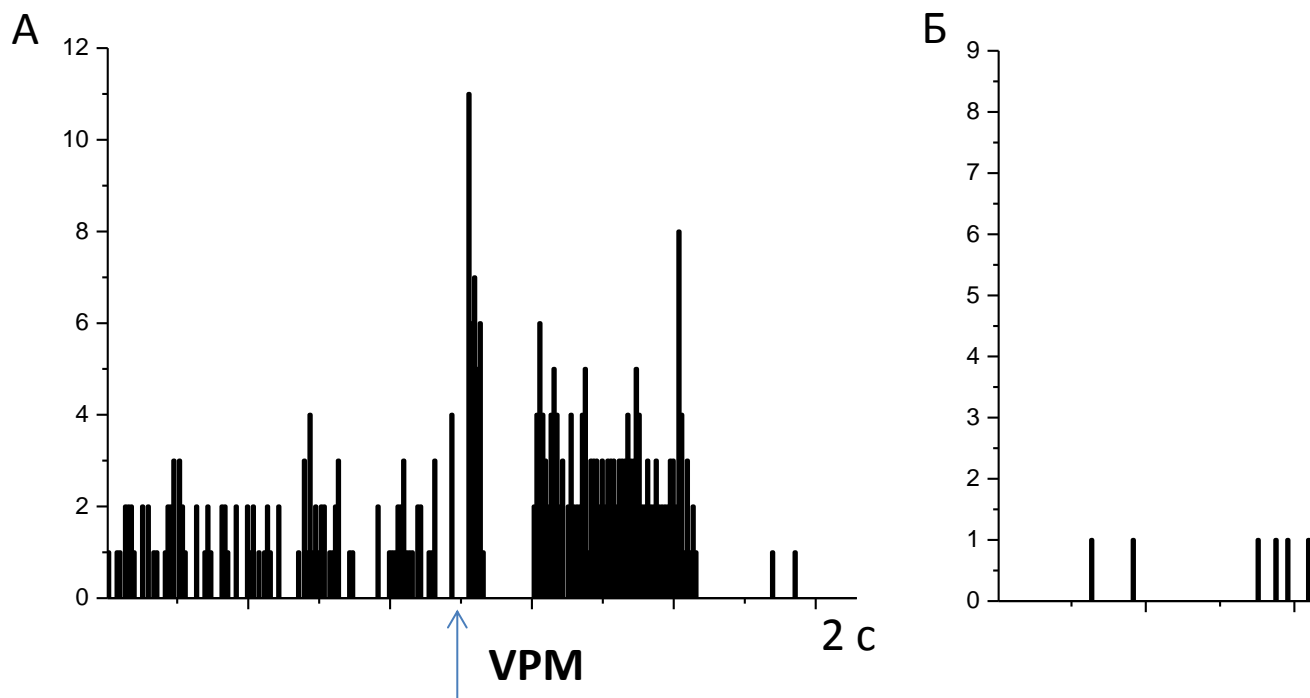
Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия.

Предполагается, что триггерной зоной генерации пик - волновой активности у крыс линии WAG/Rij, генетически предрасположенных к абсанс – эпилепсии, является соматосенсорная кора (представительство вибрисс) [4]. В последнее время появились данные о том, что заднее ядро таламуса (PO) может быть ревербератором, обеспечивающим таламо-кортикальную циркуляцию эпи-активности [3]. Это позволяло предполагать, что стимуляция PO может инициировать реверберационный процесс. Было установлено, что у крыс WAG/Rij в возрасте 6-8 месяцев, когда абсанс - эпилепсия уже сформирована, вызванная реакция нейронов соматосенсорной коры на раздражение PO представлена фазными реакциями (чередование коротких разрядов с тормозными паузами), что было интерпретировано нами как нейронный эквивалент пик-волновой активности [1]. Такая же реакция была обнаружена при стимуляции вибрисс, что не исключает возможности участия PO в циркуляции возбуждения, но допускает вероятность первичной активации соматосенсорной коры опосредовано вентро-постеро-медиальным ядром таламуса (VPM).

Задачей настоящего исследования явилось изучение реакции нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию VPM у крыс линии WAG/Rij в период, когда пик-волновая активность уже сформирована.

В остром эксперименте под уретановым наркозом (150 мг / 100 г веса животного) на 12 крысах линии WAG/Rij в возрасте 5-8 месяцев, исследована реакция 120 нейронов соматосенсорной коры на электрическую стимуляцию VPM. Параметры стимула: амплитуда – 0.5 мкА; длительность – 0,2 мс. Латентный период и длительность реакции рассчитывали по результатам предъявления 10 стимулов с помощью программы SPAN (L-Card). Статистическую значимость реакции на стимуляцию VPM определяли непараметрическим методом Вилкоксона. Статистическую значимость межгрупповых различий определяли с использованием параметрического t-теста (все анализируемые показатели имели нормальное распределение - тест Шапиро–Уилка).

Реакции нейронов 4-го слоя соматосенсорной коры были представлены четырехкомпонентным ответом: первичное возбуждение (латентный период  $12,94 \pm 2,53$  мс), первичное торможение (латентный период  $56,21 \pm 43,2$  мс), вторичное возбуждение (латентный период  $281,54 \pm 86,2$  мс), вторичное торможение (латентный период  $903,12 \pm 271,16$  мс).



### Тоническая и фазная реакции нейронов соматосенсорной коры стимуляцию VPM

Вторичное возбуждение проявлялось в виде двух типов реакций. В 36% случаев это было тоническое возбуждение длительным  $310,07 \pm 207,15$  мс (Рис А).

У 33% зарегистрированных нейронов выявлена фазная реакция, включающая группу от 2 до 5 разрядов, сменяющихся периодами молчания (Рис.Б). Длительность каждого разряда фазного ответа была  $113,67 \pm 40,75$  мс. Продолжительность периодов между активационными фазами колебалась в пределах от 56 до 240 мс. Период между первой и второй фазами ответа составлял  $130,2 \pm 48,3$  мс. Периоды между следующими фазами –  $98 \pm 24,2$  мс. Различие между первым и последующими периодами было статистически значимо ( $t(35) = 2,58$ .  $P = 0,0014$ ). Фазный ответ значительно отличался от тонической реакции по частоте потенциалов действия. Частота тонического разряда составляла  $11,12 \pm 2,7$  Гц, а частота фазного ответа  $36,86 \pm 15,68$  Гц. ( $t(59) = 5,83$ .  $P < 0,001$ ).

Таким образом, фазный ответ нейронов соматосенсорной коры у крыс линии WAG/Rij в период, когда пик-волновая активность уже сформирована, можно вызвать как стимуляцией PO (паралемнисковый вход в кору), так и стимуляцией VPM (лемнисковый вход).

Длительность периодов между фазными разрядами колеблется в пределах от 56 до 240 мс и соответствует частоте 17 Гц и 4 Гц, что находятся в диапазоне частот пик- волновой активности у крыс линии WAG/Rij [2]. Это свидетельствует в пользу высказанного нами предположения о том, что выявленная фазная реакция является нейронным эквивалентом пик-волновой активности.

Остается неясным, обусловлена ли фазная реакция реверберацией или она возникает в результате особой (например, пейсмекерной) активности нейронов коры в ответ на афферентную стимуляцию. Выяснению этого вопроса предполагается посвятить исследования предстоящего года.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ. Грант 20-013-00176 «Социальные факторы раннего онтогенеза».

1. Цветаева Д.А., Ситникова Е.Ю., Раевский В.В. Реакция нейронов соматосенсорной коры на стимуляцию заднего ядра таламуса у крыс линии WAG/Rij к 6-ти месячному возрасту трансформируется из тонической реакции в фазическую. Бюлл. Эксперим. Биол. Мед. 2019. том 168, No 7. 4-7.
2. D. Bosnyakova, A.V. Gabova, A. Zharikovae, V. Gnezditski, G. Kuznetsova, Gilles van Luijtelaar. Some peculiarities of time-frequency dynamics of spike-wave discharges in humans and rats. *Clinical Neurophysiology*. 2007. 118(8):1736-43
3. Lüttjohann A, van Luijtelaar G. Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Front. Physiol.* 2015;6. ID 16.
4. Sitnikova E., van Luijtelaar G. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Brain Res.* 2004;1012(1-2):127-137.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СЛОЖНО ОРГАНИЗОВАННОЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ НА ПРИМЕРЕ МОЗЖЕЧКА ЛЯГУШКИ

Шамсиев И. Д.<sup>1,2</sup>, Крайнев В. Д., Бондарь И. В.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>МГУ им.М.В.Ломоносова, Биологический факультет  
<sup>2</sup>ИВНД и НФ РАН  
e-mail: [ildarshamsiev.al@gmail.com](mailto:ildarshamsiev.al@gmail.com)

Применение света в медицинских и исследовательских целях зависит от прогресса в изучении динамики его распространения в биологических тканях [3]. Тем не менее, к настоящему моменту влияние гистологической неоднородности и послойной внутренней организации нервной ткани на ее общие оптические свойства остается малоисследованным [1]. Для изучения этого вопроса мы использовали объект, состоящий из трех слоев с разной клеточной плотностью и составом (мозжечок лягушки [2]).

Измерения проводились на оптической установке, состоящей из источника ближнего ИК диапазона (длина волны 880 нм, мощность 300 мВт), коллимирующего отверстия ( $d=300$  мкм), фиксатора образца и приемника.

Работа проведена на 6 животных (лягушка озерная, *Pelophylax ridibundus*). После декапитации мозжечок был зафиксирован в 4%-ном растворе параформальдегида. Далее производились серийные срезы (50 мкм) и измерялась интенсивность проходящего излучения ( $I_p$ ) на оставшемся образце. Впоследствии срезы были окрашены по методу Ниссля для подсчета плотности клеточных элементов среднего ( $R_{кл.эл.Р}$ ) и большого диаметра ( $R_{кл.эл.Р}$ ). В каждом образце на основе плотности элементов различного типа были выделены три порядковых слоя: первый, промежуточный (с максимальной  $R_{кл.эл.Р}$ , соответствует слою клеток Пуркинье) и последний. В зависимости от направления резки образцы делились на те, в которых первым выделялся молекулярный слой (случай МрG), и те, в которых первым выделялся гранулярный слой (случай GrM).

Из полученных данных можно сделать вывод, что в послойно организованной нервной ткани наблюдается зависимость проницаемости в исследуемом диапазоне от порядка следования слоев и их структурной организации. Так, в случае МрG для слоя М коэффициент проницаемости ( $K_{abs}$ ) составляет  $0.55 \text{ мм}^{-1}$ , а для слоя G  $K_{abs}$  составляет  $0.0042 \text{ мм}^{-1}$ . В случае же GrM коэффициент проницаемости ( $K_{abs}$ ) для слоя G составляет  $0.29 \text{ мм}^{-1}$ , а для слоя М  $-0.0382 \text{ мм}^{-1}$ . Можно заключить, что на границе слоев с разной клеточной плотностью происходят определенные процессы, значительно снижающие вклад вышележащего слоя в общее поглощение света образце (рис. 1). В то же время, можно отметить, что слой М в обоих случаях обладает большей проницаемостью, чем слой G, следовательно, внутренняя структура слоя также оказывает влияние на его оптические свойства в составе сложноорганизованной ткани.

Таким образом, в данной работе было показано, что структура и очередность слоев в послойно организованной биологической ткани влияют на динамику распространения света в ней.

### Список литературы:

1. Yaroslavsky A et al. Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range. *Physics in medicine and biology*, 2002: 47. 2059-73
2. Llinás R. Frog cerebellum biological basis for a computer model. *Mathematical Biosciences* Volume 11, Issues 1–2, 1971: 137-151
3. Fitzgerald M et al. Red/near-infrared irradiation therapy for treatment of central nervous system injuries and disorders. *Reviews in the neurosciences*, 2013: 24. 205-226



