

Карантыш Галина Владимировна

**ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ
РЕАКЦИЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В МОЗГЕ КРЫС
В МОДЕЛЯХ ИШЕМИИ/ГИПОКСИИ**

Специальность 03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Ростов-на-Дону – 2014

Работа выполнена на кафедре анатомии и физиологии детей и подростков факультета естествознания Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Южный федеральный университет» (г. Ростов-на-Дону)

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Менджеричкий Александр Маркович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Левицкая Наталья Григорьевна

доктор биологических наук, профессор
Фокин Виталий Федорович

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН
Анисимов Владимир Николаевич

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН» (ИЭФБ РАН)

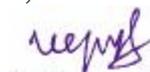
Защита диссертации состоится 21 мая 2014 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 002.044.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН» по адресу: 117485, Москва, ул. Бутлерова, д. 5а

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН»

Автореферат разослан «___» _____ 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

Доктор биологических наук



Виктор Николаевич

Иерусалимский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Исследование принципов онтогенетического развития остается актуальной задачей теоретической и практической биологии и физиологии. Основные вопросы, касающиеся индивидуального развития, до сих пор волнуют научный мир, несмотря на то, что сформулированы они были еще древнегреческими философами (Левкипп, Демокрит, Эпикур, Аристотель).

В основу современных представлений об особенностях адаптации организма на разных этапах онтогенетического развития легли теории критических периодов раннего развития (Levine, 1957), критических фаз развития организма (Грегг, 1944; Светлов, 1960), функциональных систем (Анохин, 1968), нейроэнтропийная теория (Аршавский, 1982) и т.д.

При исследовании процессов адаптации организма к стрессовым факторам особое внимание уделяется вопросам онтогенетической эволюции мозга, а также его роли в адаптационных реакциях организма. Известно, что каждому из этапов развития соответствует определенное морфологическое обеспечение функций и обучение специфическому поведению (Шулейкина, Хаютин, 1989), поэтому предъявление стрессовых воздействий на разных этапах развития организма программирует характерные для каждого возрастного периода морфофункциональные и поведенческие нарушения. Выявление механизмов, лежащих в основе онтогенетических особенностей изменения поведения в ответ на стресс, является принципиальным для разработки адекватных методов его коррекции.

В адаптивных реакциях мозга принимают участие различные нейрохимические системы. Среди них особую роль отводят нейромедиаторным системам, свободнорадикальным процессам, протеолитическим ферментам (в частности, каспазе-3) (Ашмарин, Стукалов, 1999; Гуляева, Обидин, Левшина, 1989; Гуляева, 2003, Ильюченко, 1972; Кругликов, 1981; Хухо, 1990; Huesmann, Clayton, 2006; Sherstnev et al., 2004, 2006; Stepanichev et al., 2005; и др.). Изменение функциональной активности данных нейрохимических систем в онтогенезе описано в ряде работ. Становление нейромедиаторных систем у грызунов происходит в разные сроки раннего развития. Например, формирование норадренергической и серотонинергической систем начинается с середины эмбрионального развития и завершается в основном к полуторамесячному возрасту (Раевский, 1991); формирование дофаминергической системы происходит в течение последнего триместра беременности и первых двух – двух с половиной недель постнатального развития (Мещеров, 2001; Шабанов и др., 2002, 2003). Воздействие различных видов стресса (гипоксия, этаноловая интоксикация, блокаторы рецепторов и т.д.), приходящееся на период становления медиаторных систем в мозге, способствует нарушению поведения у животных в постнатальном периоде развития (Ватаева и др., 2001; Граф и др., 2005; Резников, 2004; Шабанов и др., 2011; Шалыпина и др., 2001).

По мере старения организма функциональная активность нейромедиаторных систем снижается, как и интенсивность протекания метаболических процессов в целом. Установлено, что уровень свободнорадикальных процессов в стареющем мозге ниже, чем у молодых особей (Koltover, 2007). Вопрос о соотношении протеолитической активности в мозге у животных разного возраста остается малоизученным: в литературе описано, что активность каспазы-3 повышена на ранних этапах онтогенетического развития, когда интенсивность процессов нейрогенеза максимальна.

Изменение характерной для каждого периода онтогенеза функциональной активности данных нейрохимических систем под влиянием стрессовых факторов сопровождается нарушением поведения.

В различных экспериментальных моделях (в условиях нормы и стресса) показано, что изменение поведенческих реакций зависит от степени распределения различных нейрохимических систем в полушариях головного мозга, что дает основание рассматривать проблему функциональной межполушарной асимметрии мозга как одну из принципиальных при изучении адаптационных реакций организма. Известно, что в условиях стресса снижается уровень нейрохимической и поведенческой (моторной) асимметрии (Ротенберг, Аршавский, 1984). Также показано снижение латерализации функций в процессе старения (Borod, Goodglass, 1980), что определяется изменением в работе энергетической, нейрохимических и других функциональных систем мозга. Формирование ФМА в онтогенезе человека достаточно широко описано в литературе (Газзанига, 1974; Симерницкая, 1985; Фарбер, 1986; Фокин и др., 1985; и др.). Наиболее устойчивые межполушарные взаимоотношения формируются во взрослом возрасте (Полухов и др., 1986).

Адекватными моделями для исследования поведенческих реакций являются модели ишемии/гипоксии мозга, поскольку они могут быть использованы как на ранних этапах онтогенеза (пренатальная гипоксия), так и при экспериментах со взрослыми животными. Выявлено, что от уровня интенсивности стресса зависят поведенческие реакции, память, обучение, уровень агрессии или страха (Aleksandrov et al., 2001; Bowman et al., 2001; Fujioka et al., 2001; Lemaire et al., 2006; Pijlman, van Ree, 2002; Sousa et al., 2000; Vallee et al., 1999; Ward et al., 2000). Также патологические изменения в ЦНС зависят от длительности гипоксического воздействия и от этапа онтогенетического развития ЦНС, на котором это воздействие применяли (Журавин, 2002; Кассиль и др., 2000). В исследовании А.М. Вуда с соавт. (2008) проведено сравнение регуляторных путей адаптации к острой ишемии мозга молодых и возрастных крыс. Показано, что у старых животных происходит ранняя активация окислительного стресса и апоптоза; дегенерация нейронов увеличена на ранней стадии ишемического процесса, и восстановление функций оказывается отсроченным и неполным; резко активировано нейрональное воспаление в сравнении с молодыми крысами.

Воздействие гипоксии/ишемии мозга способствует нарушению нейромедиаторного баланса, обмена медиаторов в мозге (Nyakas et al., 1996), а также развитию гибели клеток (Иванов, 2010): гипоксия изменяет работу генетического аппарата клетки и может инициировать транскрипцию специфических генов, ответственных за программируемую гибель клетки (Анисимов, 2010; Квитко, 2010; и др.).

Для коррекции общесистемных нарушений при ишемическом/гипоксическом поражении мозга активно стали использовать препараты пептидной природы. Однако механизмы пролонгированного действия пептидов на поведение исследованы недостаточно. Нет однозначных представлений о принципах работы пептидов, недостаточно изучены механизмы их действия на адаптивные реакции организма на разных этапах онтогенеза.

Разнообразие эффектов пептидов в большой мере связывают с их влиянием на нейромедиаторные процессы (Королева и др., 2006; Левицкая и др., 2002; Ashmarin, Koroleva, 2002; Adriani et al., 2009). Пептиды, обладающие антиоксидантной активностью, способны корректировать нарушения взаимодействия разных систем (начиная от молекулярных и заканчивая структурно-функциональными элементами нейроиммуно-эндокринной регуляции) в условиях интенсификации свободнорадикальных процессов, возникающей при стрессе (Акмаев, 1996, 1997; Анисимов и др., 1997; Пальцев, Кветной, 2008). Характер влияния пептидов зависит от исходного функционального состояния организма и моноаминергической системы мозга (Вальдман, 1984; Клуша, 1984; Ostrovskaya et al., 2006; Seredenin et al., 1996).

Принципиальная идея, возникновение которой связано с открытием регуляторных пептидов, состоит в том, что комбинация аминокислотных последовательностей может давать уникальное многообразие вариантов регулирования функций организма на всех этапах его интеграции, начиная с регуляции отдельных процессов метаболизма в клетке и кончая генерализованными поведенческими реакциями (Ашмарин и др., 1998; Gomazkov, 2003). Анализ биологических эффектов регуляторных пептидов приводит к заключению, что одна и та же функция регулируется несколькими пептидами, а один и тот же пептид может участвовать в регуляции нескольких функций. Таким образом, регуляторные пептиды формируют функциональный континуум, принимающий участие в переносе информации между системами организма, его органами, тканями, группами клеток и отдельными клетками, регулируя их активность и интегрируя их деятельность в единое целое (Ашмарин, Обухова, 1998). Каждый пептид имеет спектр биологической активности, определяемый, во-первых, его непосредственным действием и, во-вторых, его способностью индуцировать выход эндогенных регуляторов, в том числе и других регуляторных пептидов. Существует множество данных, демонстрирующих регулирующее действие нейропептидов на высшие интегративные функции мозга: процессы

обучения и памяти, сна, а также участие их в реализации различных поведенческих реакций (Aja et al., 2011; Bale et al., 2001; Cheng et al., 2011; Ding et al., 2006; Leibowitz, 1986; Sakagami et al., 2011; и др.).

Гипотеза о существовании такой системы регуляции позволяет преодолеть серьезные противоречия, возникающие при попытках объяснения относительно длительных физиологических эффектов короткоживущих пептидов (Ашмарин и др., 1994). Тем не менее данная гипотеза не объясняет механизма пролонгированного влияния одних и тех же пептидов в разных моделях стресса и на разных этапах онтогенеза.

Таким образом, изучение механизмов, лежащих в основе особенностей ответа на стрессовые воздействия, а также влияния пептидных регуляторов на нейрохимические системы организмов в разные периоды онтогенеза остается актуальной задачей теоретической и практической физиологии.

Цель данной работы – выявление онтогенетических различий поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в ответ на ишемию/гипоксию мозга крыс; а также, учитывая актуальность исследования роли пептидной регуляции и функциональной межполушарной асимметрии в функциональном становлении мозга, установление их влияния на адаптационные реакции организма по поведенческим, морфологическим и биохимическим показателям.

В задачи исследования входило следующее:

1. Выявить возрастные особенности поведенческих реакций и функциональных показателей мозга в норме и при гипоксии/ишемии мозга в моделях пренатальной гипоксии, острой гипоксической гипоксии и окклюзии сонных артерий.

2. Изучить содержание нейромедиаторов в моделях пренатальной гипоксии у 21-дневных крыс и ишемии/гипоксии мозга у 3–4-месячных и 18-месячных крыс; выявить связь между особенностями изменения в содержании нейромедиаторов, свободнорадикальных процессов и поведенческими реакциями животных разного возраста.

3. Исследовать активность каспазы-3 в мозге крыс в моделях гипоксии/ишемии мозга крыс разного возраста; установить связь активности и экспрессии каспазы-3 в мозге животных с уровнем обучения.

4. Исходя из того, что функциональная межполушарная асимметрия наиболее выражена в репродуктивном периоде, у 3–4-месячных крыс изучить влияние окклюзии средней мозговой артерии на неврологический статус и объемы инфарктов мозга с разным латеральными профилем; установить влияние окклюзии сонных артерий на условную реакцию активного избегания, свободнорадикальные процессы и медиаторный баланс в мозге животных.

5. Выявить возрастные особенности влияния пептидных препаратов на поведенческие и нейрохимические показатели в норме и разных экспериментальных моделях: у 21-дневных крыс в модели пренатальной

гипоксии, у 3–4-месячных и 18-месячных животных в моделях окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии.

Научная новизна исследования.

Впервые установлено, что наиболее низкие показатели обучаемости связаны с повышением активности каспазы-3 в структурах мозга у животных, перенесших гипоксическую гипоксию на 13–20-е сутки пренатального развития, а также у 18-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии.

В работе впервые показано, что у 3–4-месячных крыс с разным латеральным профилем поведенческие реакции зависят от интенсивности стрессового воздействия. Роль моторной асимметрии в устойчивости организма к окклюзии средней мозговой артерии у крыс минимальна. Устойчивость к окклюзии сонных артерий у крыс с разным латеральным профилем связана с особенностями у них перераспределения нейромедиаторов и показателей свободнорадикального окисления в структурах мозга.

Впервые показано, что большая способность к выработке условной реакции активного избегания крыс с леволатеральным профилем коррелирует с повышением интенсивности свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий относительно животных с праволатеральным профилем.

Впервые показано, что эффективность влияния пептидных препаратов на латентное обучение в моделях пренатальной и острой гипоксической гипоксии коррелирует с их влиянием на содержание активной каспазы-3 в структурах мозга крыс разного возраста.

Впервые показано, что введение пептидных препаратов способствует снижению нейродегенерации через их влияние на содержание интерлейкинов: в модели окклюзии сонных артерий на фоне введения кортексина снижается содержание IL-6, а при введении пинеалона и дельтарана – фактора некроза опухоли в сыворотке крови 18-месячных крыс.

Впервые установлено, что пренатальное введение дельтарана способствует одинаковым изменениям в структуре поведения контрольной группы крыс и у 21-дневных животных в модели пренатальной гипоксической гипоксии.

Теоретическое и научно-практическое значение работы.

В результате проведенной работы показаны различия в устойчивости организма к ишемии/гипоксии разной интенсивности и влиянию пептидных препаратов на физиологические механизмы регуляции поведения крыс разного возраста. Установлено, что обучаемость животных зависит от влияния разных факторов (возраста, характера стрессового воздействия и/или введения пептидных препаратов) на систему каспазы-3 в структурах мозга. Эти данные могут быть использованы для определения стратегии применения пептидных препаратов в неврологической практике у пациентов разных возрастных групп.

Полученные результаты о влиянии ишемии/гипоксии мозга и введения пептидных препаратов на свободнорадикальные процессы, медиаторный баланс в мозге и содержание интерлейкинов в сыворотке крови могут служить теоретическим обоснованием разработки новых подходов к терапии заболеваний, связанных с гипоксией/ишемией мозга.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Способность к обучению крыс на разных этапах онтогенеза сопоставима с возрастными изменениями активности каспазы-3 в мозге: между активностью каспазы-3 в мозге и степенью обучаемости существует колоколообразная зависимость.

2. Онтогенетические изменения в содержании моноаминергических медиаторов являются одним из факторов, определяющих возрастные особенности структуры поведения животных.

3. Нарушение поведения у животных разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга коррелирует с уменьшением содержания норадреналина в мозге, а также со снижением нейрохимической и моторной асимметрии.

4. Введение пептидных препаратов животным разного возраста в моделях ишемии/гипоксии мозга способствует улучшению мнестических функций, способствует снижению влияния стресса на структуру поведения.

Апробация работы. Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на Европейском форуме по нейронаукам (Брайтон, Великобритания, 2000), XXX совещании по проблемам высшей нервной деятельности (Санкт-Петербург, 2000), Международной конференции «Свободные радикалы и антиоксиданты в развитии и функциях центральной нервной системы: от рождения до старости» (Санкт-Петербург, 2001), XVIII съезде физиологов России (Казань, 2001), II Всероссийской научно-практической конференции «Социальные, медико-биологические и гигиенические аспекты здоровья» (Пенза, 2004), научной конференции «Нейрохимия: фундаментальные и прикладные аспекты» (Москва, 2005), 4-й национальной научно-практической конференции с международным участием «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленск, 2005), VII Всероссийской конференции «Нейроэндокринология» (Санкт-Петербург, 2005), IV межвузовской международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2005), I съезде физиологов СНГ (Сочи, Дагомыс, 2005), VIII Мировом конгрессе «International society for adaptive medicine (ISAM)» (Москва, 2006), IV Международной научно-практической конференции «Новые медицинские технологии в охране здоровья здоровых, в диагностике, лечении и реабилитации больных (МК-13-46)» (Пенза, 2006), XIII Международном совещании по эволюционной физиологии (Санкт-Петербург, 2006), Международной конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2006), V съезде кардиологов Южного федерального округа (Кисловодск, 2006),

Всероссийской конференции с международным участием «Структурно-функциональные, нейрохимические закономерности асимметрии и пластичности мозга» (Москва, 2007), I Международной научно-практической конференции «Новые технологии в экспериментальной биологии и медицине» (Ростов-на-Дону, 2007), II научной конференции с международным участием «Актуальные проблемы науки и образования» (Варадеро, Куба, 2007), Европейском конгрессе интернациональной ассоциации геронтологов (Санкт-Петербург, 2007), II научной конференции с международным участием «Фундаментальные исследования» (Доминиканская Республика, 2007), IV научной конференции «Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Тайланд, 2007), IV научной международной конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии» (Гоа, Индия, 2007), XXI съезде Физиологического общества им. И.П. Павлова (Калуга – Москва, 2010), Всероссийской научной конференции «Модернизация науки и образования» (Махачкала, 2011), Научно-практической конференции с международным участием «Нейрохимические подходы к исследованию функционирования мозга» (Ростов-на-Дону, 2011), VIII международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2012), V Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины» (Ростов-на-Дону, 2013), XXII съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (Волгоград – Москва, 2013).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 57 научных работ, в том числе 15 статей в журналах по списку ВАК РФ, 1 монография.

Структура работы. Диссертация изложена на 308 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, двух глав, содержащих изложение результатов собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Список литературы содержит 517 источников, из них 248 отечественных и 267 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 66 таблицами и 52 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Методы исследования.

Работа с животными. Все эксперименты с животными выполнены в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF), и декларацией о гуманном отношении к животным.

В исследовании использованы беспородные 21-суточные крысы ($n = 508$); половозрелые беспородные крысы-самцы в возрасте 3–4 мес. ($n = 668$), 200 крыс линии Wistar (в модели окклюзии средней мозговой артерии, ОСМА); 18-месячные беспородные крысы-самцы ($n = 315$); беременные беспородные крысы (180–200 г) с 21–22-дневным циклом гестации ($n = 98$). Срок беременности крыс определяли, считая со дня обнаружения спермиев в вагинальном мазке. После совокупления через 6–8

часов осуществляли цитологическое исследование содержимого влагалища и беременных крыс изолировали.

В качестве моделей ишемии/гипоксии мозга использовали пренатальную гемическую гипоксию (ГемГ), пренатальную гипобарическую гипоксическую гипоксию (ГГ) разной продолжительности, двустороннюю окклюзию сонных артерий (ОСА), ОСМА, острую гипобарическую гипоксическую гипоксию (ОГГ).

Исследовали влияние функциональной межполушарной асимметрии (ФМА) на устойчивость организма крыс в разных моделях ишемии/гипоксии мозга: 1) у 3–4-месячных животных линии Wistar с разным латеральным профилем в модели ОСМА исследовали показатель выживаемости, объем инфаркта мозга, неврологический статус, высывание языка; 2) у 3–4-месячных беспородных крыс с разным латеральным профилем после моделирования ОСА изучали показатель выживаемости, сохранность УРАИ, в структурах мозга изучали содержание моноаминов (МА), состояние СРП.

В моделях пренатальной гемической и гипоксической гипоксии и введения пептидов (кортексина, пинеалона и дельтарана) у 21-дневных крыс определяли показатели поведения и обучаемости в лабиринте Морриса, а также содержание моноаминов, активность и содержание активной каспазы-3 в мозге. У 3–4-месячных крыс исследовали влияние введения пептидов (кортексина, пинеалона и дельтарана) в модели ОГГ на поведение, латентное обучение, на содержание моноаминов, активность и содержание активной каспазы-3 в мозге; также изучали влияние ОСА на содержание моноаминов в мозге (в том числе при введении кортексина, пинеалона и дельтарана) и состояние свободнорадикальных процессов.

У 18-месячных крыс исследовали влияние введения пептидных препаратов (кортексина и пинеалона) в модели ОГГ на поведение, показатели обучаемости в лабиринте Морриса, активность и содержание активной каспазы-3 в мозге, на содержание IL-6 и ФНО в сыворотке крови; также исследовали влияние ОСА на поведение, показатели свободнорадикальных процессов и содержание моноаминов в мозге.

Пептидные препараты вводили внутрибрюшинно в течение 5 суток до воздействия (3–4-месячным животным и 18-месячным крысам в моделях ОСА, ОГГ или самкам крыс в течение всей беременности (при исследовании влияния пренатальной гипоксии)). Кортиксин вводили в дозе 1 мг/кг, пинеалон – в дозе 10 мкг/кг, дельтаран – в дозе 12 мкг/100 г массы тела.

Модели ишемии мозга.

Модель двусторонней окклюзии сонных артерий. Ишемизация мозга достигалась перевязкой левой сонной артерии (ЛСА) и через минуту – временной окклюзией (на 3 минуты) правой сонной артерии (ПСА) с последующей 24-часовой реоксигенацией. При изучении роли ФМА в адаптационных реакциях организма животным с разным латеральным профилем также моделировали 3-минутную окклюзию ПСА и 24-часовую окклюзию ЛСА.

Модель окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА). В работе использовали 200 половозрелых крыс линии Wistar обоего пола (масса 355 ± 41 г, питомник Столбовая, Московская область). Животных содержали по 5 в клетке при свободном доступе к воде и пище в условиях искусственного светового цикла 12:12 ч свет/темнота (светлый период с 8:00 утра). Эксперименты проводили в соответствии с правилами “National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”; протокол экспериментов был одобрен этической комиссией ИВНД и НФ РАН. Животных наркотизировали хлоралгидратом/ксилазином (лидокаином) (350/10 мг/кг массы тела, в/б). Мониторинг и поддержание ректальной температуры на уровне $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение операционного периода осуществляли при помощи коврика “Homeothermic blanket” (Harvard Apparatus, USA). Фокальную ишемию создавали с использованием интралюминальной нити по методу, описанному Zea Longa с соавт. (1989). Через разрез на шее подходили к левым общей, внутренней и внешней сонным артериям. Через общую сонную артерию во внутреннюю сонную артерию вводили обожженную нейлоновую нить – нейлоновый монофиламент 3.0 длиной 18 мм для прекращения кровотока к левой среднемозговой артерии. Нить оставляли на 30 мин, затем вынимали, зашивали разрез и оставляли животных на 5 дней при свободном доступе к воде и пище. В группе ложноперированных животных использовали тот же протокол, за исключением того, что окклюзию артерии не производили.

Моделирование гемической и гипобарической гипоксической гипоксии. Гемическую гипоксию моделировали путем кровопотери (2% от веса животного) в первый и пятый дни беременности (зародышевый период). Взятие крови проводили прижизненно под воздействием местной анестезии (2%-ный новокаин) из подчелюстной артерии. Гипобарическую гипоксическую гипоксию моделировали путем помещения беременных самок в приточно-вытяжную барокамеру при 66,41 кПа (3500 м над уровнем моря) на 3 часа. Воздействие производили с 1-го по 10-й (зародышевый период), с 13-го по 20-й (предплодный и плодный периоды) и с 18-го по 20-й (плодный период) день беременности. В аналогичном режиме (помещение в приточно-вытяжную барокамеру при 66,41 кПа (3500 м над уровнем моря) на 3 часа) проводили гипоксическую гипоксию 3–4-месячным и 18-месячным животным.

В качестве **теста на определение латентного обучения** использовали водный лабиринт Морриса (Morris, 1984). Тестирование проводили в течение трех дней. Рассчитывали среднее значение времени выхода на платформу по результатам 4 попыток. Максимальное время нахождения животного в бассейне составляло 120 с (за 1 попытку).

Метод «Открытого поля» (Буреш и др., 1991). Для количественной оценки меры представленности контролируемых поведенческих функций весь поведенческий континуум в естественном цикле «активность – покой» был разбит на 8 форм поведения: R1 – поведенческий сон, R2 –

горизонтальная локомоторная активность, R3 – вертикальная локомоторная активность, R4 – питье воды, R5 – потребление пищи, R6 – разные виды мелкой двигательной активности (топтанье на месте, вздрагивание, принюхивание, поворот головы, движение хвостом и т.д.), R7 – груминг, R8 – релаксированное бодрствование. Формы поведения фиксировали по 10 минут 3 раза в течение первой половины дня.

Метод определения латерального профиля крыс. Латеральный профиль животных определяли с использованием Y-образного лабиринта (Ефимов с соавт., 1987). Тестирование крыс в Y-образном лабиринте проводили в одно и то же время суток (с 10 до 14 часов) при максимальном ограничении внешних раздражителей. Вычисление латерального профиля проводили по формуле: $ЛП = (Л - П) / (Л + П)$, где Л и П – суммарное количество левосторонних и правосторонних побежек и ротаций (разворотов в тупиках коридоров) за несколько сеансов тестирования.

Метод выработки условной реакции активного избегания (УРАИ). Исследование проводили с использованием установки электрокожной стимуляции, содержащей решетчатый пол и полку (Буреш и др., 1991). Животное помещали в камеру и в течение 5 минут разрешали ее исследовать. Затем включали источник тока. Эксперимент проводили каждый день по 15 минут в течение 7 дней. Рассчитывали процент выработанных УРАИ на 1–7-е сутки эксперимента (на 100 предъявлений условного стимула), а также процент сохраненных УРАИ после моделирования ОСА.

Методы оценки неврологических нарушений у крыс.

Для оценки неврологического дефицита использовали следующие тесты. Первый основан на 20-балльной поведенческой шкале (Hunter et al., 2000) и отражает выполнение животными следующих тестов: помещение лапы, установочный рефлекс, переключатель, наклонная платформа, вращение, визуальное вытягивание передней лапы, подвижность, общее состояние (развернутая неврологическая шкала). Сумма баллов 20 отражает нормальную функцию, а снижение суммы баллов указывает на нарушенный неврологический статус. Второй метод оценки неврологического дефицита (общая неврологическая шкала) проводили по шкале McGrow в модификации И.В. Ганнушкиной (1996) до операции, на 1, 3, 7-е сутки после ОСМА. При проведении тестирования животные не испытывали неприятных ощущений или иного отрицательного воздействия. Также проводили тест на высывание языка (ВЯ) (Gulyaeva et al., 2003). ВЯ измеряли по способности крысы вылизать арахисовое масло из стеклянного цилиндра длиной 2,5 см с внутренним диаметром 5 мм. Заполненный арахисовым маслом цилиндр помещали на ночь в клетку, а наутро измеряли длину верхней части цилиндра без арахисового масла. Тесты проводили начиная с первого дня после ОСМА. Для оценки общего физиологического состояния животных их ежедневно взвешивали.

Оценка объема зоны инфаркта.

После окклюзии средней мозговой артерии животных декапитировали, быстро удаляли мозг и получали коронарные срезы толщиной 2,0 мм. Срезы инкубировали в 2%-ном растворе 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТС, Sigma, USA) в 0,01 М фосфатно-солевом буфере (PBS) в течение 20 мин при комнатной температуре, а затем оставляли на ночь в 4%-ном растворе параформальдегида, забуференном фосфатом. Обе поверхности каждого среза фотографировали с использованием цифровой камеры Camedia C-5060 (Olympus, USA) и анализировали изображения с помощью программы Image Pro-Plus. Измеряли область инфаркта и рассчитывали объем инфаркта при помощи метода, описанного Lin с соавт. (Lin et al., 1993).

Биохимические методы исследования.

Содержание норадреналина (НА), адреналина, дофамина (ДА) и серотонина (5-ОТ) определяли с помощью обращенно-фазного варианта высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием на установке Gold Nouveau 125/166 Basic Gradient HPLC System Beckman Coulter. Определение активности каспазы-3 проводили флуориметрическим методом в структурах головного мозга, описанным в работах (Яковлев и др., 2004; Bradford, 1976). Содержание каспазы-3 определяли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы Biosource (Бельгия). Также в мозге крыс определяли показатели хемилюминесценции (высоту быстрой вспышки и светосумму), содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП), суммарную пероксидазную активность (СПА) (Арутюнян, 2000). Концентрацию IL-6 и TNF- α в сыворотке крови животных определяли твердофазным иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов соответствующих реагентов (eBioscience, Platinum ELISA) согласно инструкциям производителей; исследования выполнены на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Alisei» (производства Италии).

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием пакета программ Statistica for Windows 6.5. Различия между группами определяли с использованием параметрических (t-критерий Стьюдента) или непараметрических (критерий Манна–Уитни) методов анализа. Данные в таблицах и на рисунках представлены в виде «mean \pm S.E.M». Для выявления достоверности влияния факторов в группах испытуемых использовали унивариантный (ANOVA) и мультивариантный (MANOVA) дисперсионные методы.

Результаты исследования и их обсуждение.

Влияние пренатальной гипоксии на поведение, латентное обучение и нейрохимические показатели крыс. Далее представлены результаты исследования функциональных показателей у 21-дневных крыс в моделях гемической и гипоксической гипоксии. Наиболее высокий процент мертворожденных крыс (20%) выявлен в группе крыс, подвергнутых пренатальной ГГ в течение предплодного и плодного периодов (13–20-е

сутки беременности, ГГ 13–20). У крыс этой группы наблюдали и самые низкие показатели обучаемости в водном лабиринте Морриса (рисунок 1).

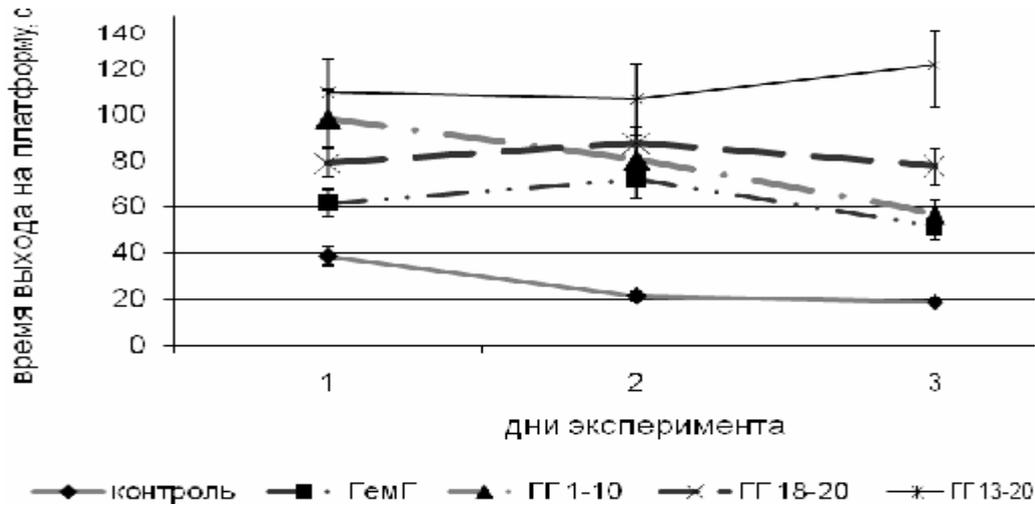


Рисунок 1 – Время выхода на платформу в течение 3 дней эксперимента крыс контрольной группы, животных в моделях гемической гипоксии (ГемГ), гипоксической гипоксии, приходящейся на 1–10-е сутки пренатального периода (ГГ 1–10), 18–20-е сутки пренатального развития (ГГ 18–20), 13–20-е сутки пренатального развития (ГГ 13–20)

В данной модели стресса (гипоксическая гипоксия, приходящаяся на 13–20-е сутки пренатального развития, ГГ 13–20) у 21-дневных крыс активность каспазы-3 в структурах мозга значительно превышает контрольный уровень. В других моделях пренатальной гемической или гипоксической гипоксии наблюдали снижение активности каспазы-3 в мозге, либо данный показатель не отличался от контроля (таблица 1).

Таблица 1 – Активность каспазы-3 в структурах мозга крыс при воздействии пренатальной гипоксии ($M \pm m$)

Группа	Кора больших полушарий	Стволовые структуры
Контроль	$2,56 \pm 0,12$	$3,53 \pm 0,37$
ГемГ	$1,64 \pm 0,09^*$	$1,79 \pm 0,26^*$
ГГ 1–10	$2,97 \pm 0,20$	$2,86 \pm 0,25$
ГГ 18–20	$2,03 \pm 0,10^*$	$2,65 \pm 0,12$
ГГ 13–20	$3,15 \pm 0,19^*$	$4,40 \pm 0,16$

Примечание: * – достоверное ($p < 0,05$) изменение активности каспазы-3 относительно контроля.

Нарушение структуры поведения у 21-дневных животных в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-е сутки пренатального развития, проявлялось в значительном повышении времени горизонтальной и вертикальной локомоторной активности и снижении представленности остальных форм поведения (рисунок 2).

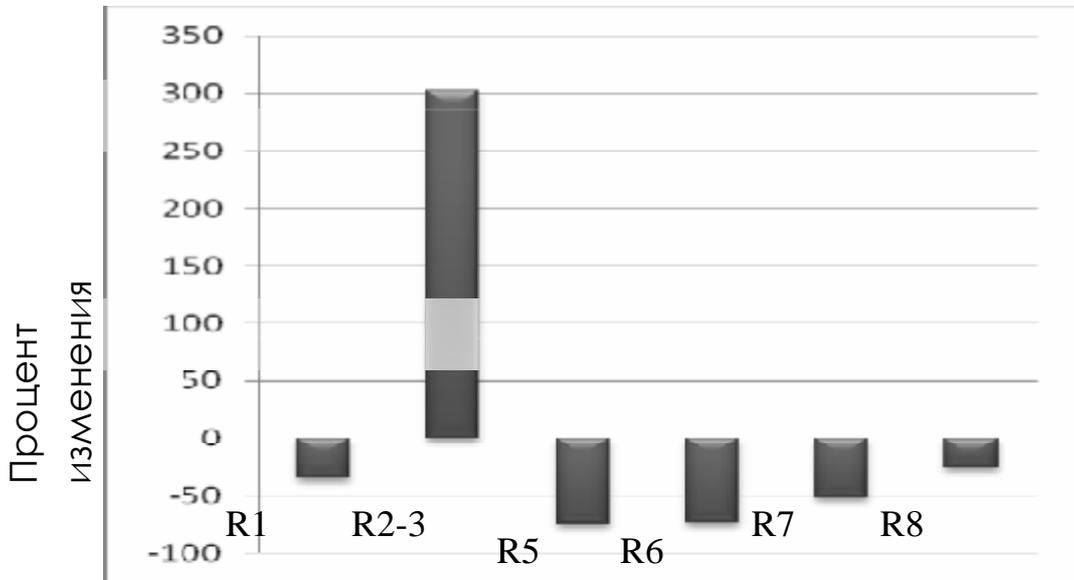
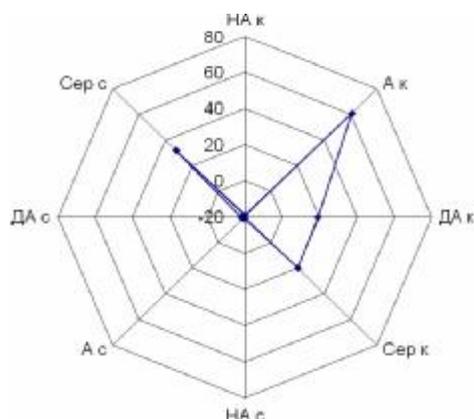


Рисунок 2 – Достоверные изменения (при $p < 0,05$) форм поведения у крыс в модели гипоксической гипоксии (13–20-е сутки беременности) относительно контроля: R1 – поведенческий сон; R2–3 – горизонтальная и вертикальная локомоторная активность; R4 – питьевое поведение; R5 – пищевое поведение; R6 – мелкая двигательная активность; R7 – груминг; R8 – релаксированное бодрствование

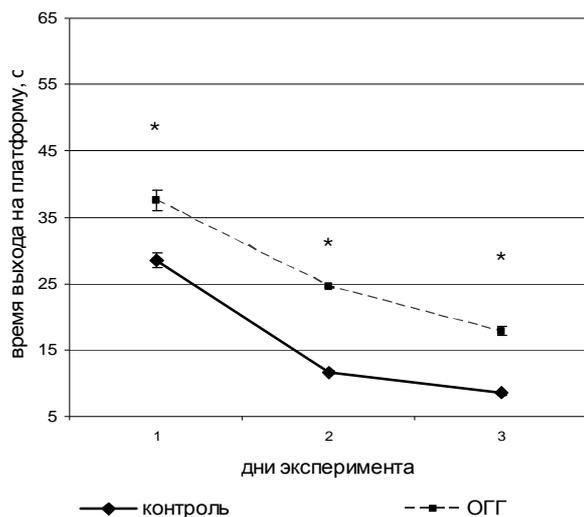
При анализе результатов исследования содержания моноаминов было установлено, что у 21-дневных крыс в модели гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-е сутки пренатального развития, в коре больших полушарий происходило снижение содержания НА, накопление А, ДА и серотонина, а в стволовых структурах – повышение уровня серотонина по сравнению с контролем (рисунок 3). В данной группе наблюдали не столь значительные отклонения в содержании моноаминов в мозге, как в других моделях (гемической и гипоксической гипоксии), относительно контроля. Обращает на себя внимание, что у 21-дневных крыс в модели пренатальной гипоксической гипоксии, приходящейся на 13–20-е сутки пренатального развития, смещение уровней моноаминов происходило в сторону преобладания серотонина в коре больших полушарий и стволовых структурах (и адреналина в коре больших полушарий). Известно, что серотонин стимулирует секрецию адреналина и норадреналина в мозговой части надпочечников через гипоталамо-гипофизарную систему (Иzzати-Заде и др., 2004). Это, вероятно, является отражением повышенного уровня стрессированности этих животных (относительно других животных в моделях пренатальной гемической и гипоксической гипоксии) и объясняет изменение структуры поведения в сторону преобладания в ней локомоторной активности.



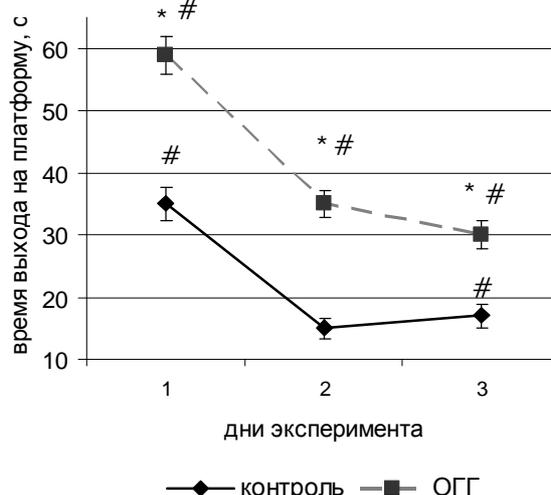
НА к – норадреналин, кора больших полушарий; А к – адреналин, кора больших полушарий; ДА к – дофамин, кора больших полушарий; Сер к – серотонин, кора больших полушарий; НА с – норадреналин, створовые структуры; А с – адреналин, створовые структуры; ДА с – дофамин, створовые структуры; Сер с – серотонин, створовые структуры

Рисунок 3 – Процент отличия содержания моноаминов в мозге 21-дневных крыс, перенесших гипоксическую гипоксию на 13–20-е сутки пренатального развития, относительно контроля

Влияние окклюзии сонных артерий и острой гипоксической гипоксии на выживаемость, поведение и нейрохимические показатели крыс 3–4- и 18-месячного возраста. Согласно полученным результатам в обеих возрастных группах животных выше процент гибели крыс в модели окклюзии сонных артерий (37,7% у 3–4-месячных и 50% – у 18-месячных животных). У 18-месячных животных в модели ОГГ выше процент смертности (37,5%) относительно 3–4-месячных крыс (43,3%). У 3–4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии мозга время поиска скрытой платформы было ниже значений, зафиксированных у 18-месячных животных (рисунок 4).



3–4-месячные крысы



18-месячные крысы

Рисунок 4 – Влияние острой гипоксической гипоксии на латентное обучение 3–4-месячных и 18-месячных крыс (* – достоверные отличия показателей крыс в модели ОГГ относительно контроля; # – достоверные отличия показателей 18-месячных крыс относительно 3–4-месячных животных)

Активность каспазы-3 в мозге 18-месячных крыс значительно ниже, чем у 3–4-месячных животных. После моделирования острой гипоксической гипоксии активность каспазы-3 у 3–4-месячных крыс повышается только в стволовых структурах, а у 18-месячных животных – и в коре больших полушарий. Содержание активной каспазы-3 в модели ОГГ у 18-месячных крыс ниже, чем у 3–4-месячных (рисунок 5). Вероятно, понижение экспрессии каспазы-3 на фоне значительного возрастания ее активности у 18-месячных животных связано с изменением метаболических процессов в мозге, что определяет и снижение обучаемости с возрастом.

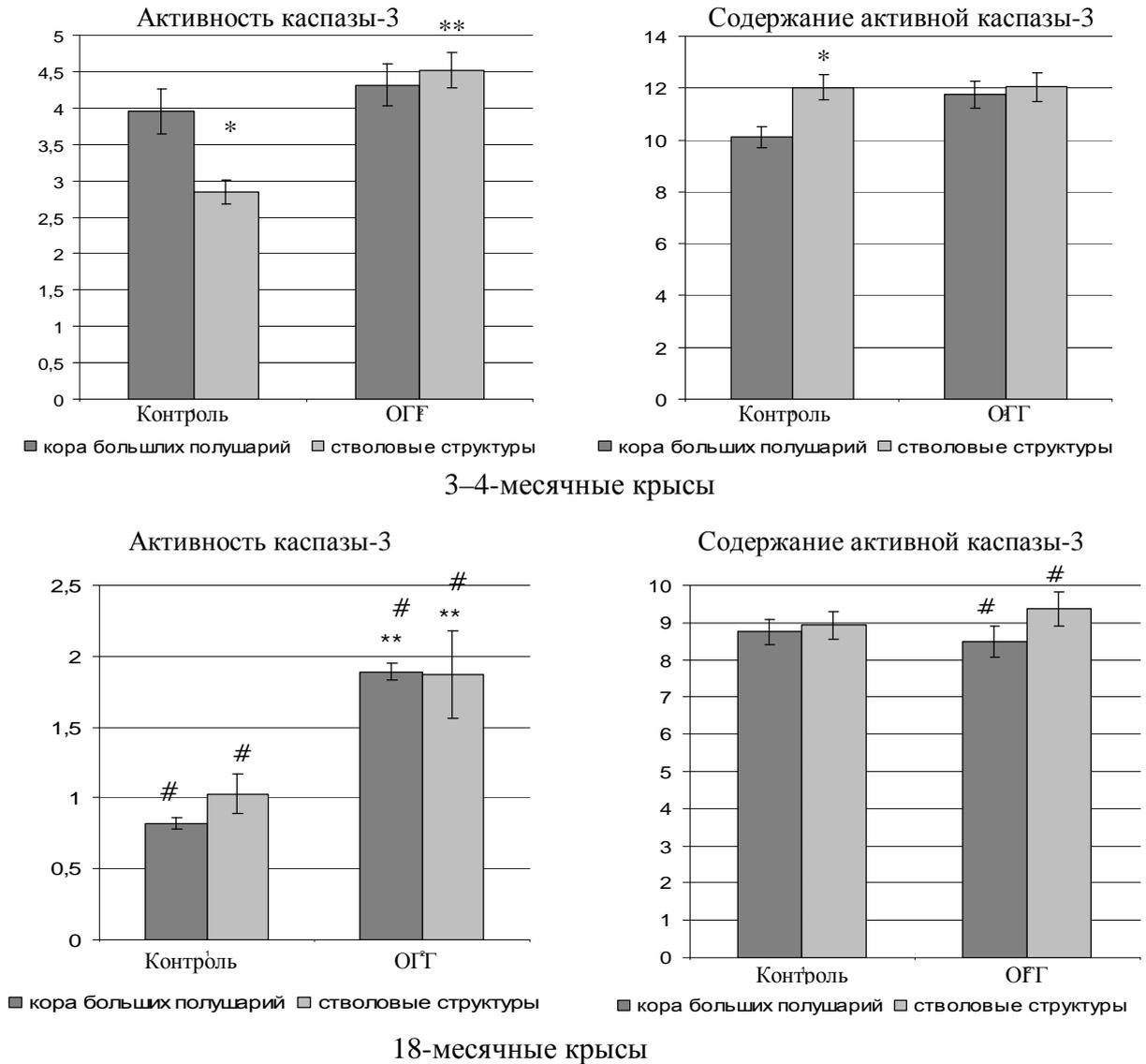


Рисунок 5 – Влияние острой гипоксической гипоксии на активность (пмоль/мин/мг белка) и содержание активной каспазы-3 в мозге 3–4-месячных и 18-месячных крыс (* – достоверные отличия показателей в стволовых структурах относительно коры больших полушарий; ** – достоверные отличия показателей крыс в модели ОГГ относительно контроля; # – достоверные отличия показателей 18-месячных крыс относительно 3–4-месячных животных)

Ответ других нейрохимических систем у крыс разного возраста в модели окклюзии сонных артерий (ОСА) также различается. Так, у 3–4-месячных крыс в модели 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА в правой половине мозга активируются пероксидазы и повышается уровень антиоксидантов, а в левой – накапливаются продукты СРО. В структурах мозга снижается содержание нейромедиаторов относительно контроля, особенно в левой половине мозга. Смещение баланса медиаторов – в сторону активации серотонинергической системы в структурах правой половины мозга и коре левых больших полушарий, а в правых стволовых структурах – в сторону норадренергической системы. В то же время уровень СРП в структурах мозга как ложнооперированных, так и в модели двусторонней ОСА 18-месячных крыс значительно снижен, как и асимметрия распределения показателей СРП в структурах мозга относительно 3–4-месячных животных.

В мозге 18-месячных крыс в модели ОСА на фоне возрастания содержания адреналина происходит истощение норадреналина и дофамина; в структуре поведения наблюдаются изменения: снижается представленность мотивационных форм поведения, мелкой двигательной активности и груминга на фоне повышения времени релаксированного бодрствования. При исследовании влияния ОСА на содержание интерлейкинов было зафиксировано накопление ИЛ-6 в сыворотке крови 18-месячных крыс, что косвенно отражает у них развитие воспалительных процессов в ответ на ишемию мозга.

Одним из функциональных критериев устойчивости организма к стрессовым факторам является функциональная межполушарная асимметрия. Поскольку латерализация полушарий наиболее выражена у животных репродуктивного возраста, далее представлены результаты исследования роли функциональной межполушарной асимметрии в поведенческих реакциях и функциональных показателях мозга крыс 3–4-месячного возраста.

Роль функциональной межполушарной асимметрии мозга в устойчивости организма к ишемическим/гипоксическим воздействиям.

Влияние окклюзии средней мозговой артерии на выживаемость, объем инфаркта и неврологический статус крыс с разным латеральным профилем. После моделирования ОСМА в левом полушарии (ОСМА(Л)) у крыс с разным латеральным профилем выявлены достоверные различия уровня смертности на 1 сутки, тогда как при окклюзии правой средней мозговой артерии (ОСМА(П)) не установлены различия показателя смертности крыс в разные дни после воздействия.

У крыс с ЛЛП показатель смертности на 1-е сутки моделирования ОСМА(П) значительно выше относительно группы крыс, которым моделировали ОСМА(Л). Различий в уровне смертности на протяжении всего периода наблюдения у крыс с ЛЛП в моделях ОСМА(Л) и ОСМА(П) не выявлено.

При анализе результатов исследования динамики веса крыс после окклюзии установлено, что снижение данного показателя происходило у всех животных на протяжении всего периода наблюдения независимо от латерального профиля. Однако у крыс с ЛЛП снижение веса было достоверно выше относительно животных с ПЛП на 1-е сутки после ОСМА(Л) и 7-е сутки после ОСМА(П).

Также показаны различия между показателями по общей неврологической шкале между крысами с разным латеральным профилем только в день моделирования ОСМА(Л) и на 7-й день ОСМА(П). В обоих случаях меньший неврологический дефицит демонстрировали крысы с ПЛП. Согласно результатам тестирования по развернутой неврологической шкале в обеих моделях ОСМА больший неврологический дефицит демонстрировали животные с ЛЛП на 7-е сутки после ОСМА(Л) и ОСМА(П).

Объем инфаркта мозга крыс, перенесших ОСМА, не различался (рисунок 6).

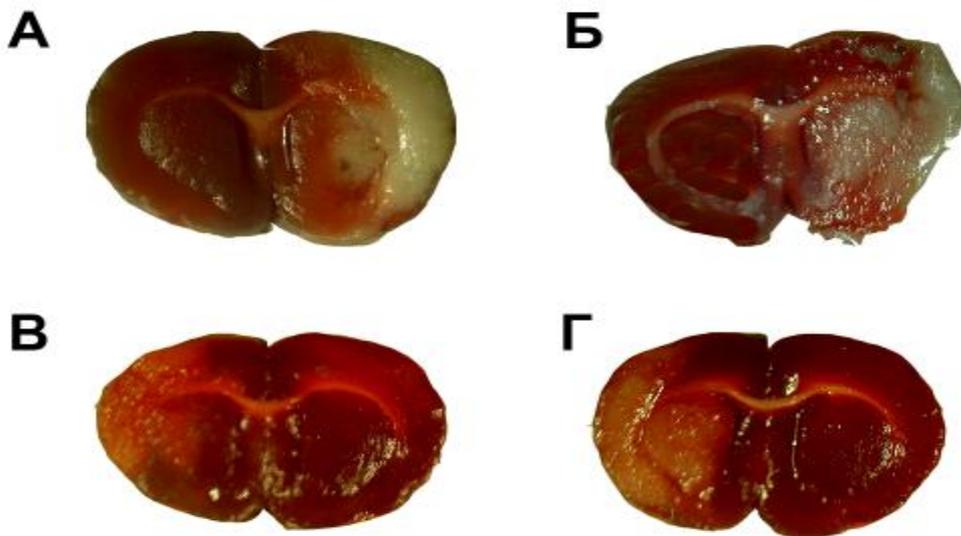


Рисунок 6 – Влияние фокальной ишемии, вызванной ОСМА справа (А, Б) и слева (В, Г) у крыс с леволатеральным (А, В) и праволатеральным (Б, Г) профилем моторной асимметрии. Срезы мозга (2 мм) окрашены ТТС.

Неокрашенные участки мозга соответствуют зоне инфаркта.

После ОСМА(Л) у крыс с ЛЛП между объемами инфарктов мозга выявлена корреляционная зависимость с показателем по общей неврологической шкале в день операции ($-r = 0,74$). Также установлена корреляционная связь между объемами инфарктов мозга и весом животных у крыс с ПЛП на 2-й день после ОСМА(Л) ($-r = 0,73$). На 7-е сутки после ОСМА(Л) показана положительная связь между изменением показателей веса животного и тестирования по общей неврологической шкале у

животных с ЛЛП ($r = 0,67$). В модели ОСМА(П) у крыс с ПЛП установлены прямые корреляционные связи между показателями неврологического дефицита (по общей неврологической шкале) и весом животных на 3-и ($r = 0,73$) и 4-е сутки ($r = 0,77$) после ОСМА. Это также подтверждено данными корреляционного анализа при сравнении показателей веса крыс с ПЛП и показателей по развернутой неврологической шкале.

У крыс с ЛЛП не обнаружено корреляционных связей между показателями неврологического дефицита и данными развернутой неврологической шкалы, в отличие от животных с ПЛП, у которых показаны отрицательные корреляционные взаимосвязи между данными показателями в течение всего периода наблюдения после ОСМА(П). Тем не менее большая взаимосвязь между показателями неврологического дефицита (по развернутой неврологической шкале) и высыванием языка на 7-е сутки установлена у крыс с ЛЛП ($r = 0,92$) относительно животных с ПЛП ($r = 0,77$). Сходные результаты корреляционного анализа (отрицательные взаимосвязи) зафиксированы между показателями высывания языка и весом крыс с разным латеральным профилем на 3-и и 7-е сутки. Однако только у животных с ПЛП установлены обратные взаимосвязи между неврологическим дефицитом по общей неврологической шкале и показателями высывания языка на 1, 2, 3 и 7-е сутки.

В настоящее время известно, что существуют межполушарные различия в регуляции вегетативных функций. Предполагают, что правое полушарие оказывает более значительное влияние на иммунитет и деятельность эндокринных желез (Gerendai, Halasz, 1997). Поэтому считают, что возможности правого полушария определяют эффективность мозговой гемодинамики. Возможно, именно с этим связан тот факт, что процент смертности крыс с ПЛП был выше в день моделирования ОСМА(П), тогда как на 1-е сутки после ОСМА наблюдали больший процент гибели животных с ПЛП в модели ОСМА(Л). Незначительные различия данного показателя у крыс с ЛЛП в день моделирования ОСМА и спустя сутки можно объяснить тем, что нарушение гемодинамики преимущественно с левой стороны снижает в целом резистентность организма, а с правой стороны – регуляторные механизмы гемодинамики мозга.

Действительно, к настоящему времени накоплено достаточное количество фактов, подтверждающих тот факт, что феномен резистентности к гипоксии мозга и другим стрессовым воздействиям связан с межполушарной асимметрией мозга (Михеев и др., 2011; Фокин, 2007; и др.). Возможно, это обусловлено в том числе асимметричным распределением дофамина в ядрах солитарного тракта (Ведясова, 2003; Меркулова и др., 1992). Не исключено, что важную роль в неравнозначном ответе полушарий на гипоксию играет эндотелиальный релаксирующий фактор, каковым является оксид азота (Манухина, 2005). Возможны и другие предположения, в частности различие полушарий в активности антиокислительных систем (Зарубина и др., 2004; Шабанов и др., 2010). Нами было показано, что

существует выраженная асимметрия в распределении ферментов глутатионовой системы в мозге крыс с разным латеральным профилем, что коррелировало и со степенью их устойчивости к окклюзии сонных артерий (Менджеричкий, 2008). В этом же исследовании были получены результаты, подтверждающие многочисленные данные, свидетельствующие о роли NO в патогенезе ишемии мозга (Bonnin et al., 2012; Mohammadi et al., 2012; Peng et al., 2012; Vaibhay et al., 2012). В частности, было установлено, что в условиях введения AR-R 17477 (ингибитор индуцибельной и нейрональной NOS) перед ОСА значительно возрастает процент выживаемости животных с разным латеральным профилем, у которых повышается функциональная активность антиоксидантной системы защиты, особенно у крыс с ЛЛП. Предположительно устойчивость организма к ОСА связана с сохранением оптимального функционирования антиоксидантных систем защиты между структурами мозга, что возможно при относительно низком базальном уровне метаболических реакций, особенно в доминирующем полушарии (Карантыш и др., 2008). Также в работе Р.И. Kudrina с соавт. (2012) установлено, что в условиях ишемии/гипоксии мозга изменяется функциональная активность систем регуляции мозгового кровотока и снижаются резервы коллатерального кровообращения мозга. Это происходит в том числе по причине нарушения эндотелийзависимой системы регуляции тонуса брахиоцефальных сосудов (Моргунов и др., 2006). Предполагают, что, диффундируя к сосудам, высокие концентрации оксида азота, образованного при участии nNOS и iNOS, при ишемии головного мозга оказывают на них повреждающее действие, приводят к формированию отека сосудистой стенки, повышению ее проницаемости, сгущению крови, повышению ее вязкости, а также увеличению агрегационных свойств форменных элементов.

Влияние окклюзии сонных артерий на УРАИ у крыс с разным латеральным профилем. При рассмотрении роли ФМА в обучении крыс с разным ЛП учитывали уровень латерализации полушарий головного мозга до и после выработки условной реакции активного избегания (таблица 2). Показано, что скорость и количество выработанных условных реакций у животных положительно коррелируют с уровнем латерализации коры больших полушарий (рисунок 7).

Таблица 2 – Уровень латерализации полушарий мозга экспериментальных крыс

Группа	Животные с ЛЛП	Животные с ПЛП
Контроль	0,64 ± 0,02	-0,58 ± 0,03
Показатели до выработки УРАИ	0,71 ± 0,03	-0,64 ± 0,02
Показатели после выработки УРАИ	0,69 ± 0,04	-0,60 ± 0,04

Более высокий процент выработанных УРАИ у животных с ЛЛП сопровождается интенсификацией свободнорадикальных процессов в мозге этих крыс (преимущественно в коре больших полушарий) относительно животных с ПЛП. Нужно также указать, что при выработке УРАИ происходит усиление метаболических процессов в недоминирующем

полушарии у животных с разным латеральным профилем. Вероятно, это является одной из причин некоторого снижения ($0,05 < p < 0,1$) уровня латерализации полушарий головного мозга животных (Менджеричский и др., 2005).

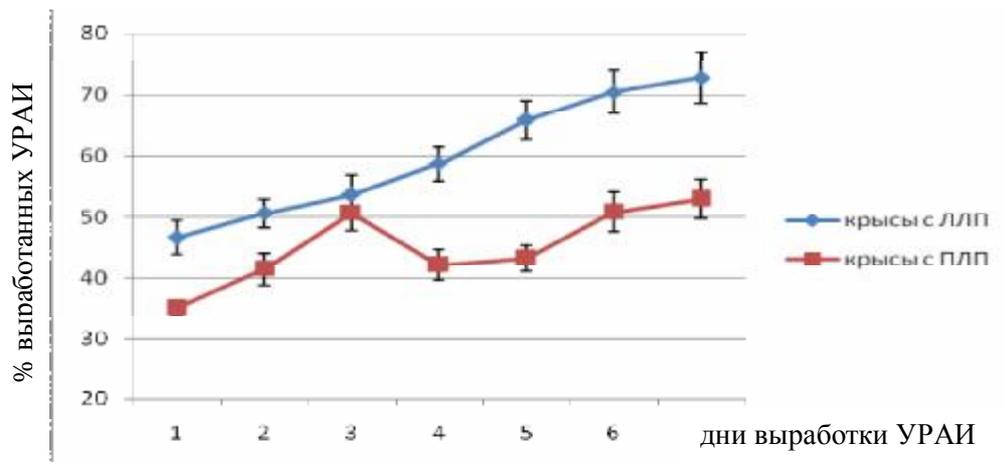


Рисунок 7 – Скорость выработки УРАИ в течение недели у крыс с разным латеральным профилем

Согласно результатам тестирования после окклюзии произошло резкое снижение процента УРАИ у крыс по сравнению с седьмым днем выработки рефлекторных реакций (таблица 3). У животных с ЛЛП эти изменения менее выражены по сравнению с крысами с ПЛП. При этом при перевязке сонной артерии на 24 часа со стороны доминирующего полушария происходит более значительное снижение показателя УРАИ по сравнению с 7-м днем эксперимента у крыс с ЛЛП и ПЛП.

Это подтверждают результаты изучения показателей свободнорадикальных процессов: у крыс, которым моделировали 24-часовую окклюзию со стороны доминирующего полушария, интенсивность накопления продуктов СРО и снижения активности ферментов антиоксидантной защиты в мозге была выраженной. Наиболее значительное развитие окислительного стресса выявлено в мозге животных с ПЛП относительно крыс с ЛЛП (Kim et al., 2006).

Таблица 3 – Степень выработки и сохранности УРАИ в ходе эксперимента и после ОСА

Группа	Животные с ЛЛП	Животные с ПЛП
7-й день эксперимента	72,83 + 4,21	53,00 + 3,17**
Спустя сутки после 3-минутной окклюзии ПСА + 24-часовой окклюзии ЛСА	20,75 + 1,75*	10,25 + 0,78*
Спустя сутки после 3-минутной окклюзии ЛСА + 24-часовой окклюзии ПСА	35,78 + 1,37*	5,38 + 0,21* **

Примечание: * – достоверные отличия от показателя УРАИ на 7-й день эксперимента; ** – достоверные отличия от показателей у животных с ЛЛП.

Влияние окклюзии сонных артерий на нейрохимические показатели крыс с разным латеральным профилем, которым вырабатывали условную реакцию активного избегания. У контрольных животных с разным ЛП в коре правых больших полушарий суммарная пероксидазная активность (СПА) превышает тот же показатель в коре левых больших полушарий. У крыс с ПЛП содержание ТБК-реактивных продуктов (ТБК-РП) в коре больших полушарий выше относительно животных с ЛЛП. После выработки УРАИ у крыс с ПЛП в коре левых больших полушарий и стволовых структурах СПА была повышена, в коре правых больших полушарий – снижена; у животных с разным ЛП значительно было повышено содержание ТБК-РП в мозге по сравнению с контролем. У животных с ПЛП после выработки УРАИ обнаружено более значительное накопление ТБК-РП в коре левых, а у крыс с ЛЛП – в коре правых больших полушарий. Вероятно, при выработке УРАИ интенсификация метаболических процессов происходит преимущественно в недоминирующей полушарии. Видимо, поэтому у крыс с ПЛП и ЛЛП произошло снижение уровня латерализации полушарий ($0,05 < p < 0,1$). После выработки УРАИ наблюдали в том числе повышение высоты быстрой вспышки в коре больших полушарий, а также светосуммы в коре больших полушарий и правых стволовых структурах у крыс с ЛЛП и ПЛП относительно контроля.

У крыс с ЛЛП в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» отмечено достоверное снижение СПА в коре больших полушарий и правых стволовых структурах относительно контроля и группы крыс в модели «УРАИ». У животных с ПЛП в коре больших полушарий и правых стволовых структурах выявлено снижение СПА, а в левых стволовых структурах – увеличение относительно контроля. Уровень ТБК-РП у крыс с ЛЛП в модели «УРАИ + 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА» был выше в коре левых больших полушарий и ниже в правых стволовых структурах относительно животных в модели «УРАИ». Таким образом, 3-минутная окклюзия ПСА и 24-часовая окклюзия ЛСА способствовали интенсификации свободнорадикальных процессов преимущественно в коре больших полушарий, особенно у животных с ПЛП. У крыс с ЛЛП на фоне более значительного увеличения количества свободных радикалов и липоперекисей в левой половине мозга (со стороны 3-минутной окклюзии с последующей 24-часовой реперфузией) здесь же обнаружено и большее накопление ТБК-РП. У крыс с ПЛП обнаружено менее выраженное накопление липоперекисей и количества свободных радикалов в мозге по сравнению с животными с ЛЛП.

В модели «3-минутная окклюзия ЛСА и 24-часовая окклюзия ПСА» показатели хемилюминесценции у крыс с ПЛП были выше по сравнению с животными с ЛЛП. Таким образом, одновременно с нарушением сохранности выработанного УРАИ после ОСА обнаружена значительная интенсификация СРП в мозге животных. Крысы с ЛЛП обладают более высокой устойчивостью к ОСА, о чем судили по показателям выживаемости,

свободнорадикальных процессов и сохранности выработанных УРАИ. Также установлено, что при моделировании 24-часовой окклюзии со стороны доминирующего полушария в ипсилатеральных структурах мозга интенсивность свободнорадикальных процессов ниже, чем со стороны доминирующего полушария.

Изменение нейромедиаторного баланса в мозге 3–4-месячных крыс с разным латеральным профилем при окклюзии сонных артерий. У животных с ЛЛП в условиях 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА в коре больших полушарий происходит смещение баланса моноаминов в сторону активации норадренергической системы, в правых стволовых структурах – серотонинергической (выживаемость животных этой группы составила 62,5%). В условиях 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА у животных с ЛЛП (выживаемость – 66%) в коре больших полушарий показано смещение баланса моноаминов в сторону активации норадренергической системы, в правых стволовых структурах – дофаминергической, а в левых стволовых структурах – серотонинергической системы. Таким образом, в обеих моделях двусторонней ОСА у крыс с ЛЛП происходит активация норадренергической системы в коре больших полушарий (Карантыш и др., 2007).

У крыс с ПЛП в обеих моделях ОСА выявлено истощение исследованных нейромедиаторов (Менджеричкий и др., 2007). При 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА (выживаемость – 44%) наибольшее снижение содержания норадреналина происходит в структурах левой половины мозга, а дофамина и серотонина – в стволовых структурах. В условиях 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА у животных с ПЛП снижение уровня норадреналина происходит преимущественно в структурах правой половины мозга, снижается асимметрия в перераспределении серотонина и дофамина в структурах мозга, преобладает активность серотонинергической системы. Нужно отметить, что в данной экспериментальной модели показатель выживаемости был самым низким – 33%. В настоящее время доказано, что доминирующим (поддерживающим уровень устойчивости к гипоксии, характерный для интактных особей) является правое полушарие, а поскольку антигипоксические возможности левой гемисферы всегда полностью задействованы (Михеев и др., 2011), моделирование 24-часовой окклюзии ПСА у крыс с доминированием правого полушария способствует снижению адаптационных возможностей организма к ишемизации мозга, что приводит к высокому проценту гибели крыс и выраженным нарушениям на уровне нейрохимических систем. Эти изменения происходят на фоне повышения уровня апоптотических процессов в мозге крыс (рисунок 8).

Изложенные выше результаты подтверждают представление о том, что у животных с разным ЛП существуют различия в устойчивости к стрессу, в том числе к ишемии/гипоксии мозга. Известно, что искусственно сформированная доминанта в одном из полушарий повышает

стрессоустойчивость организма (Кржановский, 1997). Более высокая стрессоустойчивость наблюдается у животных с доминированием левого полушария (Русинова, 1997).

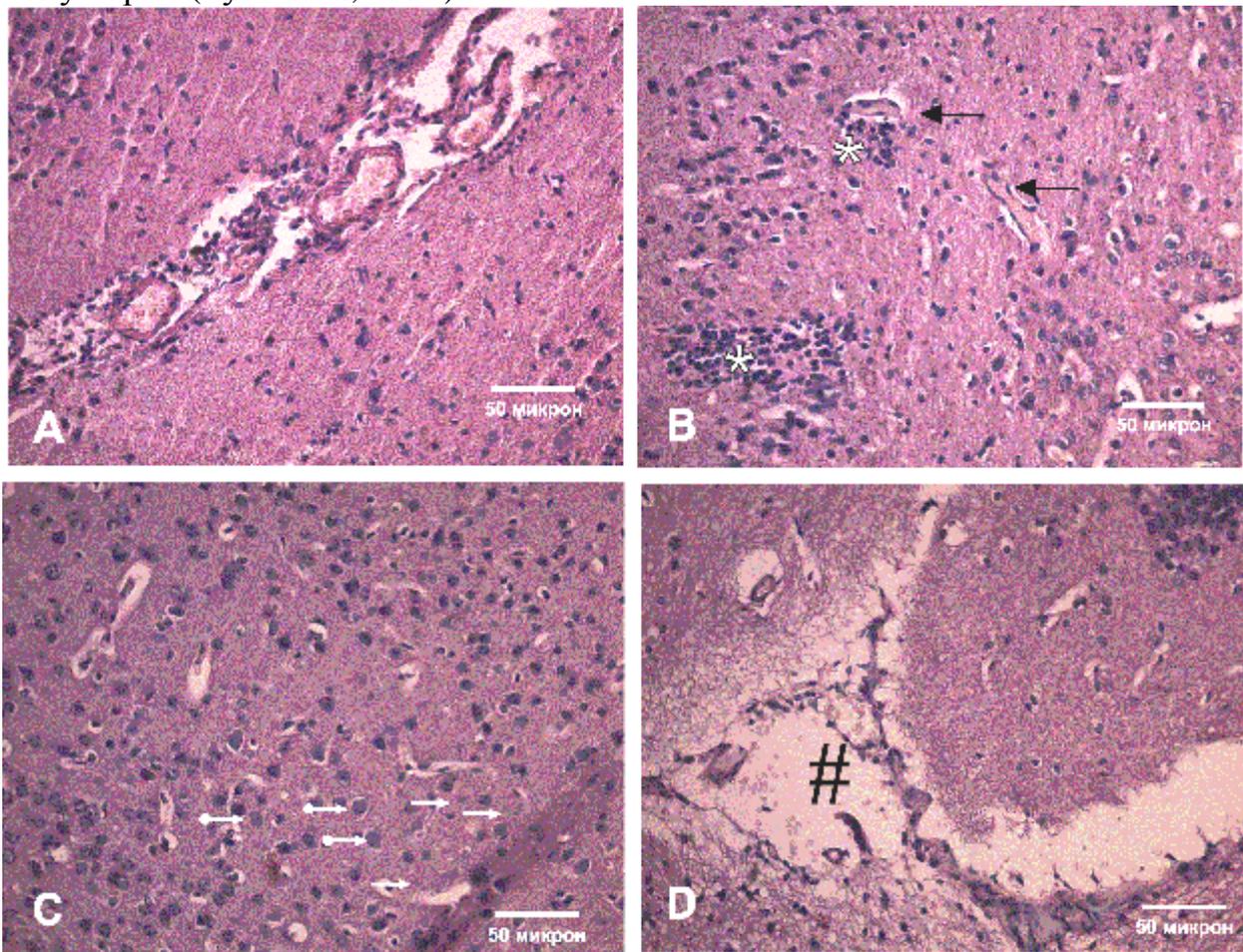


Рисунок 8 – *A*: фронтальный срез коры больших полушарий крыс через 24 часа после проведения ложной операции; *B*: фронтальный срез коры больших полушарий крыс через 24 часа после двухсторонней окклюзии сонных артерий (со стороны 24-часового лигирования сонной артерии); очаги глиальной инфильтрации – звездочки; сосуды мозга – черные стрелки; периваскулярное пространство расширено, сосуды заполнены плазмой; *C*: через 24 часа после окклюзии в пирамидном слое коры больших полушарий (со стороны 24-часового лигирования сонной артерии) наблюдается значительное количество измененных гиперхромных пирамидных нейронов (стрелки с основанием); часть нейронов погибла, можно видеть «клетки-тени» (стрелки без основания); *D*: отек гиппокампа (решетка)

Однако повышение интенсивности стрессового воздействия способствует снижению уровня латерализации полушарий и одновременно адаптационных резервов организма (Менджеричкий, Карантыш, 2013). В результате в модели окклюзии средней мозговой артерии не были выявлены принципиальные различия исследованных показателей устойчивости к данному виду стресса между крысами с разным латеральным профилем.

Поскольку установлено, что ишемия/гипоксия мозга способствует значительному снижению латерализации нейрхимических систем у крыс с разным латеральным профилем, влияние пептидных препаратов рассматривали без учета латерального профиля животных.

Влияние пептидных препаратов на обучение, поведение и нейрхимические показатели в разных моделях ишемии/гипоксии мозга.

Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к пренатальному стрессу. Согласно полученным результатам наиболее выраженное влияние на показатель выживаемости оказали дельтаран (96%) и пинеалон (94%). Тем не менее процент гибели крыс после пренатального стресса был ниже и в группе животных, которым вводили кортексин.

Показано, что по возрастанию степени эффективности действия на латентное обучение в моделях «пренатальное введение короткого пептида» и «пренатальная гипоксическая гипоксия + введение пептида» данные препараты распределяются следующим образом: **кортексин – пинеалон – дельтаран**. Выявлена закономерность: чем выше эффективность воздействия препарата на латентное обучение крыс, тем более высокий уровень активной каспазы-3 в структурах мозга этих животных. К примеру, у крыс в модели пренатальной гипоксической гипоксии и введения дельтарана в коре больших полушарий содержание активной каспазы-3 было выше контрольного уровня на 144% ($p < 0,0001$), в стволовых структурах – на 109% ($p < 0,001$). Снижение активности каспазы-3 в структурах мозга крыс наблюдали в моделях пренатального стресса и введения кортексина, и в меньшей степени – пинеалона, а при введении дельтарана (модель «пренатальный стресс + дельтаран») активность каспазы-3 остается на уровне контроля.

Также согласно полученным результатам наиболее значимое влияние на структуру поведения и снижение эффектов гипоксического воздействия у крыс оказывает введение дельтарана. У 21-дневных крыс (интактных и в модели пренатальной гипоксической гипоксии) наблюдали снижение вертикальной и горизонтальной локомоторной активности и мелкой двигательной активности на фоне повышения представленности поведенческого сна, релаксированного бодрствования, груминга и мотивационного поведения.

На фоне введения кортексина как интактным 21-дневным крысам, так и в модели пренатальной гипоксической гипоксии в стволовых структурах показано повышение содержания дофамина. В условиях введения дельтарана у 21-дневных интактных крыс и в модели пренатальной гипоксической гипоксии выявлено повышение содержания адреналина и норадреналина в стволовых структурах. При введении пинеалона у 21-дневных интактных животных и в модели пренатальной гипоксической гипоксии обнаружено повышение содержания серотонина в стволовых структурах.

Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга 3–4-месячных крыс. Процент гибели у животных,

подвергнутых предварительному введению пептидных препаратов перед окклюзией сонных артерий / острой гипоксической гипоксией, ниже, чем у крыс в моделях ОГГ и ОСА. Влияние пептидов было выше в модели ОГГ относительно модели ОСА.

Влияние пептидных препаратов на свободнорадикальные процессы в мозге крыс в модели окклюзии сонных артерий. Введение пептидных препаратов (кортексина, пинеалона, дельтарана) способствует повышению интенсивности свободнорадикальных процессов в мозге 3–4-месячных животных: происходит накопление ТБК-реактивных продуктов (в меньшей степени при введении дельтарана), в коре больших полушарий при введении кортексина и дельтарана снижена суммарная пероксидазная активность, также выявлено увеличение показателей хемилюминесценции, наиболее значимое при введении кортексина (Менджеричкий, Карантыш, 2013).

В то же время в модели окклюзии сонных артерий введение дельтарана способствует даже более значительному возрастанию содержания ТБК-реактивных продуктов в структурах мозга (особенно в стволовых структурах) 3–4-месячных животных, чем без предварительного введения данного пептида в модели ОСА.

Влияние пептидных препаратов на латентное обучение 3–4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии. В модели острой гипоксической гипоксии введение пептидных препаратов значительно улучшало показатель обучаемости крыс относительно животных, которым не вводили препараты до моделирования ОГГ. Обучаемость в водном лабиринте Морриса 3–4-месячных крыс контрольных групп и в модели ОГГ выше при введении пинеалона и дельтарана относительно животных, которым вводят кортексин.

Влияние пептидных препаратов на активность каспазы-3 у 3–4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии. При введении пептидных препаратов у 3–4-месячных крыс контрольных групп в стволовых структурах активность каспазы-3 повышается, то же происходит при введении дельтарана в модели ОГГ. Содержание каспазы-3 в мозге крыс при введении дельтарана повышается как в контрольной группе, так и в модели ОГГ. При введении пинеалона повышение содержания каспазы-3 происходит только в мозге крыс контрольной группы, при введении кортексина – в стволовых структурах.

Как ранее было показано, в модели «дельтаран + ОГГ» в мозге крыс (в большей степени в стволовых структурах) значительно повышена активность каспазы-3, животные этой же группы демонстрировали более высокие показатели обучаемости в лабиринте Морриса относительно крыс, которым до ОГГ вводили пинеалон и кортексин. Данный факт согласуется с ранее полученными результатами, согласно которым более высокий уровень интенсификации свободнорадикального окисления в коре больших полушарий у крыс после выработки УРАИ является одним из нейрохимических критериев их большей способности к обучению

(Карантыш, Менджерицкий, 2013). Введение и других исследуемых пептидов при ОСА сопровождалось возрастанием интенсификации СРП (особенно показателей хемилюминесценции при введении кортексина) в структурах мозга 3–4-месячных животных.

Влияние пептидных препаратов на поведение 3–4-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии. Введение дельтарана 3–4-месячным крысам, как интактным, так и в модели острой гипоксической гипоксии, способствовало сходным изменениям вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, а также времени сна и релаксированного бодрствования у 21-дневных животных (таблица 4). Сходное влияние на питьевое поведение оказало введение дельтарана и, особенно, пинеалона. Дельта-сон индуцирующий пептид, входящий в состав дельтарана, взаимодействуя с опиоидной системой, проявляет гипногенные свойства и повышает резистентность организма к стрессу (Боголепов, Доведова, 2010). Вероятно, и пинеалон взаимодействует с опиоидной системой, чем можно объяснить однонаправленное влияние этих двух пептидов на питьевое поведение.

Таблица 4 – Влияние пептидных препаратов на поведение крыс разного возраста

Группы		Кортексин	Пинеалон	Дельтаран
21-дневные крысы	Интактные	↓ R2–3, R6 ↑ R5, R7	↓ R5 ↑ R1, R4, R8	↓ R2–3, R6 ↑ R1, R4, R5, R7, R8
	Пренатальная ГГ	↓ R2–3, R6 ↑ R1, R5, R8	↓ R5, R8 ↑ R1	↓ R2–3, R6 ↑ R1, R4, R5, R7, R8
3–4-месячные крысы	Интактные	↓ R2–3, R6, R7 ↑ R1, R8	↓ R1, большое потребление воды ↑ R2–3, R5	↓ R2–3, R4, R6, R7 ↑ R1, R8
	ОГГ	↓ R2–3, R6, R7 ↑ R1, R5, R8	↓ R2–3, R5, R7, потребление воды ↑ R1, R8	↓ R2–3, R7 ↑ R1, R8
18-месячные крысы	Интактные	↓ R2–3, R5, R7, потребление воды ↑ R1	↓ R5, R6, R7, потребление воды ↑ R1, R8	Не исследовано
	ОСА	↓ R2–3, R5, R6, R7, потребление воды ↑ R1, R8	↓ R2–3, R6, R7, потребление воды ↑ R1, R8	

Влияние пептидных препаратов на медиаторный баланс в мозге 3–4-месячных крыс при острой гипоксической гипоксии. У 3–4-месячных интактных животных и в модели ОГГ в коре больших полушарий происходит накопление адреналина и норадреналина, а в стволовых структурах наблюдали увеличение уровня адреналина и дофамина; в коре

больших полушарий 18-месячных крыс у интактных животных и в модели ОГГ выявлено повышение содержания ДОФА и дофамина относительно контрольных групп животных того же возраста (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние пептидных препаратов на содержание моноаминов в коре больших полушарий (КБП) и стволовых структурах (СС) мозга крыс

Группы		кортексин	пинеалон	дельтаран
21-дневные крысы	Интактные	КБП: ↑ А СС: ↑ ДА	КБП: ↑ А, ↓ ДА СС: ↑ серотонина	СС: ↑ А, НА
	Пренатальная ГГ	КБП: ↓ ДА, серотонина СС: ↑ ДА, А	СС: ↑ серотонина	КБП: ↑ А; ↓ ДА СС: ↑ А, НА
3–4-месячные крысы	Интактные	КБП: ↑ А, НА СС: ↑ А, НА, ДА	КБП: ↑ А, НА СС: ↑ А, ДА	КБП: ↑ НА, ДА, серотонина СС: ↑ А, НА
	ОГГ	КБП: ↑ А, НА, ДА СС: ↑ А, ДА	КБП: ↑ А, НА СС: ↑ А, НА	КБП: ↑ НА, ДА, серотонина СС: ↑ серотонина
18-месячные крысы	Интактные	КБП: ↑ ДОФА, ДА СС: ↓ ДА	КБП: ↑ А, ДА СС: ↑ А	Не исследовано
	ОСА	КБП: ↑ ДОФА, ДА СС: ↑ А, НА	КБП: ↑ ДА, ДОФА СС: ↑ А	

Введение кортексина интактным животным способствует повышению содержания адреналина и норадреналина в структурах мозга и дофамина в стволовых структурах по сравнению с контролем. Введение кортексина перед ОГГ способствовало сходным изменениям в содержании медиаторов, за исключением наблюдаемого повышения уровня дофамина в коре больших полушарий. У животных, которым вводили пинеалон, обнаружено повышение содержания адреналина в мозге, норадреналина в коре больших полушарий и дофамина в стволовых структурах относительно контроля. В модели введения пинеалона и ОГГ также происходило возрастание содержания адреналина в мозге, а также норадреналина как в коре больших полушарий, так и в стволовых структурах. Введение дельтарана интактным

крысам и в модели ОГГ способствовало накоплению в коре больших полушарий норадреналина, дофамина и серотонина; изменения в содержании медиаторов в стволовых структурах в этих группах относительно контроля животных различались.

Влияние пептидных препаратов на показатели устойчивости к ишемии/гипоксии мозга 18-месячных крыс. Процент выживаемости 18-месячных крыс при введении пептидных препаратов и моделировании ишемии/гипоксии мозга был выше, чем в моделях ОСА и ОГГ. Наименьший процент гибели крыс при ОГГ наблюдался в условиях предварительного введения кортексина, наиболее высокий – при введении пинеалона. Показатель гибели 18-месячных крыс при ОСА в условиях введения кортексина/пинеалона составил 33,3%, а при введении дельтарана – 30%. Таким образом, данные пептидные препараты имеют сходную эффективность воздействия на показатель выживаемости при ишемии/гипоксии мозга 18-месячных животных.

Влияние кортексина и пинеалона на поведение 18-месячных крыс, подвергнутых окклюзии сонных артерий. Введение кортексина как интактным животным, так и в модели ОСА способствовало повышению времени сна, снижению питьевого и пищевого поведения и груминга; в данных моделях выявлены различия в изменении следующих поведенческих форм: ориентировочное поведение, мелкая двигательная активность и релаксированное бодрствование. Сходные изменения времени сна, питьевого и пищевого поведения, груминга и релаксированного бодрствования установлены в группах 18-месячных крыс, которым вводили пинеалон (как интактным животным, так и в модели ОСА) (см. таблицу 4).

Влияние пептидных препаратов и острой гипоксической гипоксии на латентное обучение 18-месячных крыс. Влияние пептидных препаратов на латентное обучение 18-месячных животных при введении кортексина и пинеалона было сходно с таковым у 3–4-месячных крыс. Нужно отметить, что введение трипептида 18-месячным крысам способствовало повышению времени поиска скрытой платформы на 1 день эксперимента относительно контрольной группы 18-месячных животных, но к 3-м суткам данный показатель не различался в этих группах. Время поиска скрытой платформы у старых животных, которым вводили кортексин, было выше на 2-й и 3-й день тестирования относительно контрольной группы старых животных соответственно на 301% ($p < 0,001$) и 75% ($p < 0,05$). Сходное влияние на вертикальную и горизонтальную локомоторную активность и сон оказывают кортексин и дельтаран у животных разных возрастных групп. В моделях гипоксической гипоксии введение кортексина, так же как и дельтарана, способствует повышению времени релаксированного бодрствования. При введении пинеалона у животных разных возрастных групп происходят разнонаправленные изменения большинства поведенческих форм, за исключением его влияния на питьевое поведение.

Влияние кортексина и пинеалона на содержание моноаминов в структурах мозга 18-месячных крыс при окклюзии сонных артерий.

Под влиянием введения кортексина наблюдали повышение содержания ДОФА (на 13%, $p \leq 0,05$) и дофамина (на 43%, $p \leq 0,05$) в коре больших полушарий. В то же время в стволовых структурах отмечено снижение содержания дофамина на 20% относительно контрольной группы животных. При введении пинеалона выявлено увеличение уровня адреналина как в коре больших полушарий (на 27%), так и в стволовых структурах (на 43%). Также в коре больших полушарий установлено возрастание содержания дофамина на 40% относительно контроля. В коре больших полушарий крыс в модели введения кортексина и ОСА происходило повышение содержания ДОФА и дофамина, а в стволовых структурах – увеличение уровня норадреналина (на 15%, $p \leq 0,05$) и адреналина (на 57%, $p \leq 0,05$) относительно контроля. У животных в модели введения пинеалона и ОСА выявлено накопление ДОФА и дофамина в коре больших полушарий соответственно на 22% ($p \leq 0,05$) и 37% ($p \leq 0,05$), в стволовых структурах установлено увеличение содержания адреналина на 55% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем (см. таблицу 5).

При проведении сравнительного анализа влияния пептидов на нейромедиаторный баланс установлено, что кортексин оказывает большее влияние на содержание в структурах мозга дофамина, пинеалон, соответственно, на уровень адреналина, а дельтаран – норадреналина.

Существуют данные, согласно которым дофамин может оказывать стресс-лимитирующее действие в условиях стресса. В том числе агонисты дофаминовых D2- и D3-рецепторов обеспечивают защитное действие кортикальных олигодендроцитов при энергетическом дефиците и от токсического воздействия глутамата (Seif-El-Nasr et al., 2008). Протективное влияние оказывают дофамин и агонисты D4-рецепторов при ишемическом повреждении, травме мозга, нейродегенеративных заболеваниях (Ishige et al., 2001). Согласно другим представлениям, энергетический метаболизм в мозге регулируется через активацию $\beta 2$ -адренорецепторов адреналином, а не норадреналином. Увеличение уровня адреналина в мозге способствует усилению гликогенолиза и гликолиза. Известно, что гликогенолиз осуществляется при участии фосфорилазы, которая активируется путем фосфорилирования при помощи АТФ. Авторы сообщают, что окислительное карбоксилирование в условиях энергетического дефицита в мозге усиливается через $\beta 2$ -адренергический механизм (Quistorff et al., 2008).

В свою очередь, норадреналин также выполняет защитную функцию в низких концентрациях (0,3–10 мкМоль). В этом случае происходит повышение выживаемости дофаминергических нейронов. Интересно отметить, что данный эффект связывают с ингибированием каспаз. Причем действие норадреналина не связано с уровнем активности адренорецепторов, активностью ферментов глутатионовой системы, но оно схоже с эффектами действия некоторых антиоксидантов. Авторы утверждают, что норадреналин в указанных концентрациях сам может выступать в качестве антиоксиданта

(Troade et al., 2002). Кроме того показано, что регуляция энергетического метаболизма осуществляется и норадреналином. Так, S. Sangiao-Alvarellos с соавт. (2011) установлено, что повышение содержания норадреналина приводит к снижению уровня гликогена и АТФ, накоплению пирувата и лактата, повышению активности пируваткиназы и лактатдегидрогеназы, снижению активности фруктозо-1,6-бисфосфатазы. Вероятно, влияние норадреналина на гликолиз и гликогенолиз опосредуется через активацию не β 2-, а другого типа адренорецепторов.

Таким образом, адаптивные перестройки нейромедиаторного баланса под влиянием пептидных препаратов также опосредуют функциональные изменения на уровне энергетического баланса, состояния про- и антиоксидантных систем, а также протеолитических реакций. Это подтверждают и результаты данного исследования. Кроме того, смещение нейромедиаторного баланса в условиях введения пептидных препаратов связывают и с их влиянием на поведенческие реакции. Так, установлена обратная зависимость между изменением уровня серотонина и потреблением пищи крысами под влиянием введения пептидных препаратов, что подтверждает данные литературы, согласно которым при повышении уровня серотонина в гипоталамических структурах возникает чувство сытости и пищевое поведение снижается (Halford, Harrold, 2012; Thomsen et al., 2008). Между изменением уровня других нейромедиаторов в структурах мозга крыс и особенностями поведенческих реакций под влиянием введения пептидных препаратов взаимосвязи не установлено. Очевидно, это является результатом влияния пептидов не столько на метаболизм медиаторов, сколько на механизмы рецепторного связывания. Уровень же рецепторного связывания может изменяться в зависимости от разных факторов, в том числе от функциональной зрелости нейромедиаторной системы, стрессовых факторов и т.д.

Влияние пептидных препаратов на активность каспазы-3 в мозге и содержание интерлейкинов в сыворотке крови 18-месячных крыс в модели острой гипоксической гипоксии. Введение кортексина не способствовало изменению активности каспазы-3 у 18-месячных животных, тогда как содержание активной каспазы-3 значительно возросло в структурах мозга. Введение пинеалона вызывало повышение каспазной активности в коре больших полушарий и стволовых структурах мозга животных на 34% и 27% ($p \leq 0,05$), соответственно. В условиях введения кортексина перед ОГГ наблюдали снижение активности каспазы-3 в структурах мозга до уровня контрольных показателей. Введение пинеалона перед ОГГ способствовало снижению активности фермента в коре больших полушарий на 48% ($p \leq 0,05$), а в стволовых структурах – на 24% ($p \leq 0,05$) относительно группы животных в модели ОГГ. Однако в стволовых структурах активность фермента была выше (на 38%, $p \leq 0,05$), чем в контроле.

Также на фоне введения кортексина (в отличие от других пептидов) обнаружено повышение содержания IL-6 у 18-месячных крыс в сыворотке

крови в контрольной группе и в модели ОСА (таблица 6). При введении пинеалона и дельтарана происходит снижение содержания в крови фактора некроза опухоли. Известно, что IL-6 в мозге может индуцировать каскад нейродегенеративных изменений (He et al., 2006). Можно предположить, что при окклюзии сонных артерий происходит активация нейровоспаления, введение же кортексина перед ОСА снижает степень нейровоспалительного процесса, а введение пинеалона и дельтарана блокирует этот процесс относительно группы животных, которым моделировали ОСА без введения препаратов. Также при введении пинеалона и дельтарана перед ОСА выявлено снижение уровня фактора некроза опухоли на 25% ($p < 0,05$) относительно 1-й группы, что ассоциируют со снижением зоны инфаркта при ишемическом повреждении мозга (Pan, Kastin, 2007).

Таблица 6 – Влияние пептидных препаратов на содержание IL-6 и TNF- α в сыворотке крови старых крыс ($M \pm m$)

Группы	IL-6, пк/мл	TNF- α , пк/мл
1-я группа (Л/О)	27,17 \pm 1,06	90,89 \pm 3,57
2-я группа (ОСА)	990,46 \pm 43,17*	103,61 \pm 4,36
3-я группа (кортексин)	53,92 \pm 2,35*	82,51 \pm 3,41
4-я группа (кортексин + ОСА)	350,51 \pm 15,87*	88,72 \pm 3,49
5-я группа (пинеалон)	33,46 \pm 1,23	93,31 \pm 4,22
6-я группа (пинеалон + ОСА)	34,13 \pm 0,97	67,96 \pm 3,26*
7-я группа (дельтаран)	31,45 \pm 1,24	79,34 \pm 2,64
8-я группа (дельтаран + ОСА)	32,74 \pm 1,06	69,51 \pm 3,23*

Примечание: * – достоверные отличия показателей относительно контрольного уровня при $p < 0,05$.

Результаты дисперсионного анализа сравнения исследованных показателей. В результате проведенного исследования были выявлены возрастные особенности поведенческих реакций крыс. В частности, в контроле уровень обучаемости животных (оценивали по времени поиска скрытой платформы в лабиринте Морриса по результатам тестирования на 3-й день эксперимента) повышается к 3–4-месячному возрасту, а к 18 месяцам – снижается до уровня 21-дневных крыс. При сопоставлении результатов тестирования в лабиринте Морриса с нейрохимическими показателями с использованием однофакторного дисперсионного анализа было показано следующее. В период с 21-дневного возраста до 3–4-месячного возраста выражена зависимость между высоким уровнем обучаемости и активностью каспазы-3 в коре больших полушарий крыс, а также уровнем норадреналина и дофамина в структурах мозга. Повышение представленности мелкой двигательной активности (R6) и снижение времени сна (R1) к 3–4-месячному возрасту относительно 21-дневных крыс находится в прямой зависимости от увеличения содержания норадреналина (НА). Также высокая факторная нагрузка показана для изменения содержания дофамина (ДА) в структурах мозга у 3–4-месячных крыс относительно 21-дневных и

следующих форм поведения: ориентировочного (R2–3) и питьевого (R4), груминга (R7) и релаксированного бодрствования (R8). К 18-месячному возрасту относительно 3–4-месячных крыс выявлена зависимость между изменением в содержании норадреналина в стволовых структурах (НА(СС)) животных и такими формами поведения, как поведенческий сон (R1), ориентировочное (R2–3) и пищевое поведение (R5), а также между уровнем дофамина в коре больших полушарий (ДА(КБП)) и стволовых структурах мозга (ДА(СС)) и следующими формами поведения: поведенческий сон (R1), груминг (R7) и релаксированное бодрствование (R8).

Поскольку животным 21-дневного возраста вводили пептидные препараты пренатально, в отличие от 3–4-месячных и 18-месячных крыс (в течение 5 дней до декапитации), то далее представлены результаты дисперсионного анализа влияния пептидных препаратов (кортексина и пинеалона) у животных только двух возрастных групп. Согласно результатам анализа изменение в содержании дофамина и норадреналина в структурах мозга у крыс 3–4-месячного и 18-месячного возраста под влиянием введения кортексина влияет на такие формы поведения, как поведенческий сон (R1), ориентировочное (R2–3), питьевое (R4) и пищевое поведение (R5), груминг (R7) и релаксированное бодрствование (R8). Существует и взаимосвязь между активностью каспазы-3 в мозге и уровнем обучаемости животных данных групп. Введение пинеалона также реализует свое влияние на особенности поведения животных разного возраста через изменение содержания норадреналина и дофамина в мозге.

Так же как и при введении кортексина, при введении пинеалона выявлена связь между активностью каспазы-3 в мозге и показателем латентного обучения животных 3–4-месячного и 18-месячного возраста. Межгрупповые различия форм поведения связаны с влиянием пинеалона на содержание дофамина и норадреналина в структурах мозга:

- под влиянием введения трипептида время поведенческого сна у животных этих возрастных групп зависит от уровня как норадреналина, так и дофамина в коре больших полушарий и стволовых структурах;

- время ориентировочного поведения связано с межгрупповыми различиями содержания норадреналина в стволовых структурах и уровня дофамина в коре больших полушарий;

- время питьевого поведения связано с межгрупповыми различиями содержания норадреналина в коре больших полушарий и стволовых структурах и уровня дофамина в стволовых структурах;

- время пищевого поведения связано с межгрупповыми различиями уровня обоих медиаторов в коре больших полушарий и стволовых структурах;

- время мелкой двигательной активности связано с межгрупповыми различиями уровней норадреналина и дофамина в стволовых структурах и содержания дофамина в коре больших полушарий;

– время груминга связано с межгрупповыми различиями уровня норадреналина и дофамина в стволовых структурах и содержания норадреналина в коре больших полушарий;

– время релаксированного бодрствования связано с межгрупповыми различиями содержания норадреналина и дофамина в коре больших полушарий и уровня норадреналина в стволовых структурах.

Таким образом, согласно проведенному статистическому анализу взаимосвязи исследованных функциональных показателей в группах крыс разного возраста можно отметить следующие моменты.

Во-первых, существует взаимосвязь между возрастными изменениями поведенческих реакций и нейрохимическими показателями животных. Так, уровень активности и экспрессии каспазы-3 в структурах мозга находится в определенной связи со способностью к обучению животных контрольных групп. При стрессе происходит более значительное повышение активности каспазы-3 в мозге крыс, что сопровождается снижением показателя обучаемости. Данный факт свидетельствует о нелинейной зависимости уровня активности каспазы-3 в мозге и способности к обучению животных, находящихся в разных функциональных состояниях (контроль – стресс).

Во-вторых, на фоне стрессового воздействия наблюдается интенсификация свободнорадикальных процессов, снижение содержания отдельных нейромедиаторов в мозге, а также понижение нейрохимической и моторной латерализации (по результатам исследования у 3–4-месячных крыс). При этом выработка УРАИ у животных с разным латеральным профилем также приводит к изменению латерализации распределения показателей свободнорадикальных процессов в мозге крыс и моторных качеств: у крыс с леволатеральным профилем была отмечена более выраженная моторная латерализация и более высокие значения процента выработанных УРАИ.

В-третьих, в условиях окклюзии средней мозговой артерии происходит наиболее значительное снижение нейрохимической и моторной латерализации, что приводит к развитию у крыс неврологических нарушений и инфаркту мозга. В связи с этим при ОСМА значимые различия у особей с разным латеральным профилем установлены лишь в отдельных случаях, т.е. роль функциональной межполушарной асимметрии в условиях ОСМА минимальна.

В-четвертых, при введении пептидных препаратов происходит изменение активности каспазы-3 в мозге крыс, что коррелирует со степенью обучаемости животных. Наименее выражены изменения обучаемости крыс, которым вводили кортексин, у этих животных происходили разные изменения активности каспазы-3. У 21-дневных животных наблюдали ее снижение, что, тем не менее, не сопровождалось изменением обучаемости крыс относительно контрольной группы. Под влиянием введения кортексина у 3–4-месячных и 18-месячных крыс также не выявлено значимых изменений обучаемости и активности каспазы-3 в мозге. Более выраженное влияние на

обучаемость животных оказали дельтаран и пинеалон, что сопровождалось изменением в активности данного протеолитического фермента. Изменение в структуре поведения животных под влиянием пептидных препаратов опосредовано в том числе их влиянием на содержание норадреналина и дофамина.

В-пятых, в условиях окислительного стресса (пренатальная гипоксическая гипоксия, острая гипоксическая гипоксия, окклюзия сонных артерий) предварительное введение пептидных препаратов способствует снижению воздействия стресса, и это сопровождается повышением обучаемости крыс и снижением нарушения в структуре поведения животных разного возраста относительно крыс, которым не вводили пептидные препараты до стрессового воздействия.

Таким образом, возрастные изменения функциональных показателей мозга отражаются на поведенческих реакциях, при этом ответ на внешние воздействия (введение препаратов или стресс) также имеет возраст-специфический характер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования была сформулирована гипотеза о механизмах действия ишемии/гипоксии мозга на поведение и нейрохимические показатели крыс разного возраста. Известно, что в основе развития ишемического/гипоксического повреждения мозга лежат процессы апоптоза и некроза. В зависимости от степени интенсивности данного стрессового воздействия развитие патологического процесса может приводить к снижению резистентных свойств нейрохимических систем, что, в свою очередь, отражается на их распределении в структурах мозга.

В случае окклюзии средней мозговой артерии повреждение достигает уровня, когда роль функциональной межполушарной асимметрии минимальна: уровень выживаемости, размер зон инфарктов и ряд других показателей, отражающих степень устойчивости к ишемии мозга, не различаются у крыс с разным латеральным профилем. Это дало основание предполагать, что в случае развития некротических повреждений мозга развивается функциональная симметризация регуляторных систем головного мозга.

При моделировании окклюзии сонных артерий признаков некроза клеток мозга не было выявлено, однако наблюдались изменения, характерные для ишемизации мозга: очаги глиальной инфильтрации, гиперхромные пирамидные нейроны, отек в области гиппокампа. Тем не менее выявлены различия в устойчивости к данному виду стресса у животных с разным латеральным профилем: процент выживаемости животных с ЛЛП был выше относительно крыс с ПЛП. Вероятной причиной данного факта может быть то, что после моделирования ОСА у крыс, особенно с ПЛП, наблюдали снижение асимметрии в распределении медиаторов в структурах правой и левой половин головного мозга. Одним из критериев устойчивости к данному виду стресса, вероятно, является

увеличение активности норадренергической системы в коре больших полушарий животных. Тогда как истощение медиаторного баланса при окклюзии сонных артерий есть отражение снижения резистентных свойств нервной системы.

Известно, что в основе изменений регуляции мозгового кровообращения, в том числе и при ишемии/гипоксии мозга, лежат различные нейрогуморальные механизмы, в реализации которых непосредственное участие принимают нейромедиаторные системы, оксид азота, уровень которого зависит от активности различных форм NO-синтаз, свободнорадикальные процессы и множество других факторов. В настоящее время накоплено достаточное количество данных, подтверждающих связь между изменением активности NO-синтаз и проапоптотическими факторами (Осипов и др., 2007; Moll, Zaika, 2001; Weiland et al., 2000), в том числе каспазы-3; очевидно в регуляции латерализации функций нервной системы может принимать участие и функциональная активность данных ферментативных систем.

Таким образом, степень изменений в нейрогуморальной регуляции мозгового кровообращения при ишемическом/гипоксическом поражении мозга зависит от того, по какому пути развивается патологический процесс: через развитие некроза или апоптоза.

Все вышеописанные процессы отражаются на поведенческих реакциях организма. Так, в модели окклюзии средней мозговой артерии принципиальных различий в неврологическом статусе у крыс с разным латеральным профилем не обнаружено.

Но в условиях стресса меньшей интенсивности (окклюзии сонных артерий) роль функциональной межполушарной асимметрии прослеживается. В том числе сохранность выработанных рефлексов после окклюзии сонных артерий у животных с леволатеральным профилем была выше относительно крыс с ПЛП.

В работе А.М. Mendzeritski et al. (2008) было показано, что после окклюзии сонных артерий у животных с ПЛП наступает истощение антиоксидантной системы защиты значительно быстрее по сравнению с левополушарными крысами, но введение ингибитора индуцибельной и нейрональной NO-синтазы (AR-R 17477) снижает уровень вызываемых ОСА событий. Развитие окислительного стресса в условиях стрессового воздействия у животных с разным латеральным профилем определяет особенность стратегии их адаптации, в основе чего, вероятно, лежит разная степень активации у них проапоптотических ферментов в структурах мозга.

Также нужно отметить, что и в контрольных группах крыс у особей с леволатеральной моторной асимметрией выше способность к выработке условной реакции активного избегания относительно животных с ПЛП, что связано с особенностью метаболических реакций у крыс с ЛЛП в коре больших полушарий (о чем судили по степени интенсивности свободнорадикальных процессов).

Способность к обучению является отражением развивающихся пластических изменений в мозге: формируются новые синаптические контакты на фоне элиминации других нейронов (принимающих участие в совершении поведенческого акта по предыдущей схеме), активность которых сопровождается повышенными метаболическими «потребностями», что является противоречием с новыми способами согласования «потребностей» клеток индивида (Александров, 2004). Это косвенно подтверждают и полученные в нашей лаборатории данные (Косенко и др., 2007), согласно которым у крыс с ПЛП после ОСА развивается более значительный энергетический дефицит в мозге относительно животных с леволатеральным профилем. Поэтому в условиях ОСА в группе крыс с праволатеральным профилем выше уровень смертности, а у выживших – ниже способность к сохранности УРАИ относительно животных с леволатеральным профилем.

В настоящее время все больше обсуждают проблему включения активности ранних генов в обучение и поведение (Анохин, 1998, 2009; Anokhin, Rose, 1991; и др.). Известно, что осуществление поведения обеспечивается не только посредством реализации новых систем, сформированных при обучении актам, которые составляют это поведение, но и посредством одновременной реализации множества более старых систем, сформированных на предыдущих этапах индивидуального развития (Судаков, 1993).

Пренатальный стресс, приходящийся на предплодный и плодный периоды, оказывает наиболее негативное влияние на обучение крыс относительно острого гипоксического воздействия у половозрелых и 18-месячных крыс. Это может быть связано с особенностями морфогенеза в пренатальном периоде развития. Каждый акт обучения – это эпизод морфогенеза. Гибель клеток имеет место не только в условиях патологии, но и при созревании (Александров, 2010). Однако окислительный стресс в пренатальном периоде, потенцирующий процесс чрезмерного метилирования ДНК, играет трагическую роль в созревании функциональных систем мозга: снижается способность к изменению программы адаптации к меняющимся условиям окружающей среды (Pendina et al., 2011).

В связи с этим изменения в функциональном состоянии разных нейрохимических систем являются эндогенным посредником (опосредованно через изменение активности ранних генов), влияющим на реализацию поведенческого акта. Можно предположить, что экзогенные факторы, такие как пептидные препараты, также могут включаться в этот процесс. Существуют данные, согласно которым структура пептидов обеспечивает условия для узнавания и комплементарного связывания пептида с определенной последовательностью функциональных групп нуклеотидов на поверхности большой канавки двойной спирали ДНК в области промоутерного участка гена (Хавинсон и др., 2005; Jen-Jacobson, 1995; Yang, Van Duyn, 2004; и др.). Существует также представление о том, что соединения пептидной природы могут осуществлять свои функции на уровне

межклеточного взаимодействия между геномом и структурно-функциональными элементами нейроиммуно-эндокринной регуляции (Акмаев, 1996, 1997; Пальцев, Кветной, 2008). Такой комплексный подход к проблеме может объяснить то, почему пептиды способны оказывать пролонгированные эффекты на поведение. Так, в данной работе было продемонстрировано влияние пептидных препаратов на поведение животных разного возраста. Показаны, во-первых, различия между влиянием на структуру поведения кортексина и пинеалона у животных 3–4- и 18-месячного возраста, во-вторых, пролонгированное влияние дельтарана, кортексина и пинеалона на поведение 21-дневных крыс, которым пренатально вводили эти препараты.

Таким образом, пептидные препараты могут по-разному влиять на обучение и поведение в зависимости от условий, в которых находится организм. Данный факт можно объяснить полифункциональностью пептидов: большинство из них оказывает влияние на свободнорадикальное окисление (Болдырев, 1999; Гуляева и др., 1988; Лебедько, Тимошин, 2006; Формазюк и др., 1992; и др.), нейромедиаторные системы (Королева и др., 2006; Левин и др., 2004; Левицкая и др., 2002; Менджеричкий и др., 2003; Хама-Мурад и др., 2008; Ashmarin, Koroleva, 2002; и др.).

Было показано, что эффективность воздействия пептидных препаратов на обучение зависит от их влияния на систему каспазы-3, что дает основание предполагать тот факт, что данные препараты способны потенцировать процессы нейрогенеза/синаптогенеза на фоне активации апоптоза. Наибольшую эффективность имеет дельтаран относительно пинеалона и кортексина.

В исследовании установлены особенности реагирования организма на введение пептидных препаратов у животных разного возраста в условиях ишемии/гипоксии мозга. Интересен тот факт, что пренатальное введение дельтарана (в отличие от других исследованных пептидных препаратов) способствовало одинаковым изменениям в структуре поведения 21-дневных крыс как контрольной группы, так и подвергнутых пренатальному стрессу. Вероятно, введение пептидных препаратов, особенно дельтарана, способствует снижению воздействия данного вида стресса на процессы метилирования ДНК, активирующиеся при окислительном стрессе.

При сравнении показателей нейрохимических систем у крыс разного возраста отмечено снижение интенсивности свободнорадикальных процессов к 18-месяцам у животных относительно 3–4-месячного возраста, что согласуется с данными литературы (Козина, 2007). При этом уровень активной каспазы-3 в структурах мозга 18-месячных крыс не отличается от показателя 3–4-месячных животных. В то же время активность данной протеазы была выше у молодых крыс относительно 18-месячных животных. В связи с этим, вероятно, уровень обучаемости и адаптационных процессов в целом у 3–4-месячных крыс выше в условиях ишемии/гипоксии мозга. В результате проведения регрессионного анализа показателей обучаемости

крыс разного возраста и активностью каспазы-3 в мозге были выявлены возрастные особенности связи этих показателей у животных, находящихся в разных экспериментальных моделях (рисунок 9).

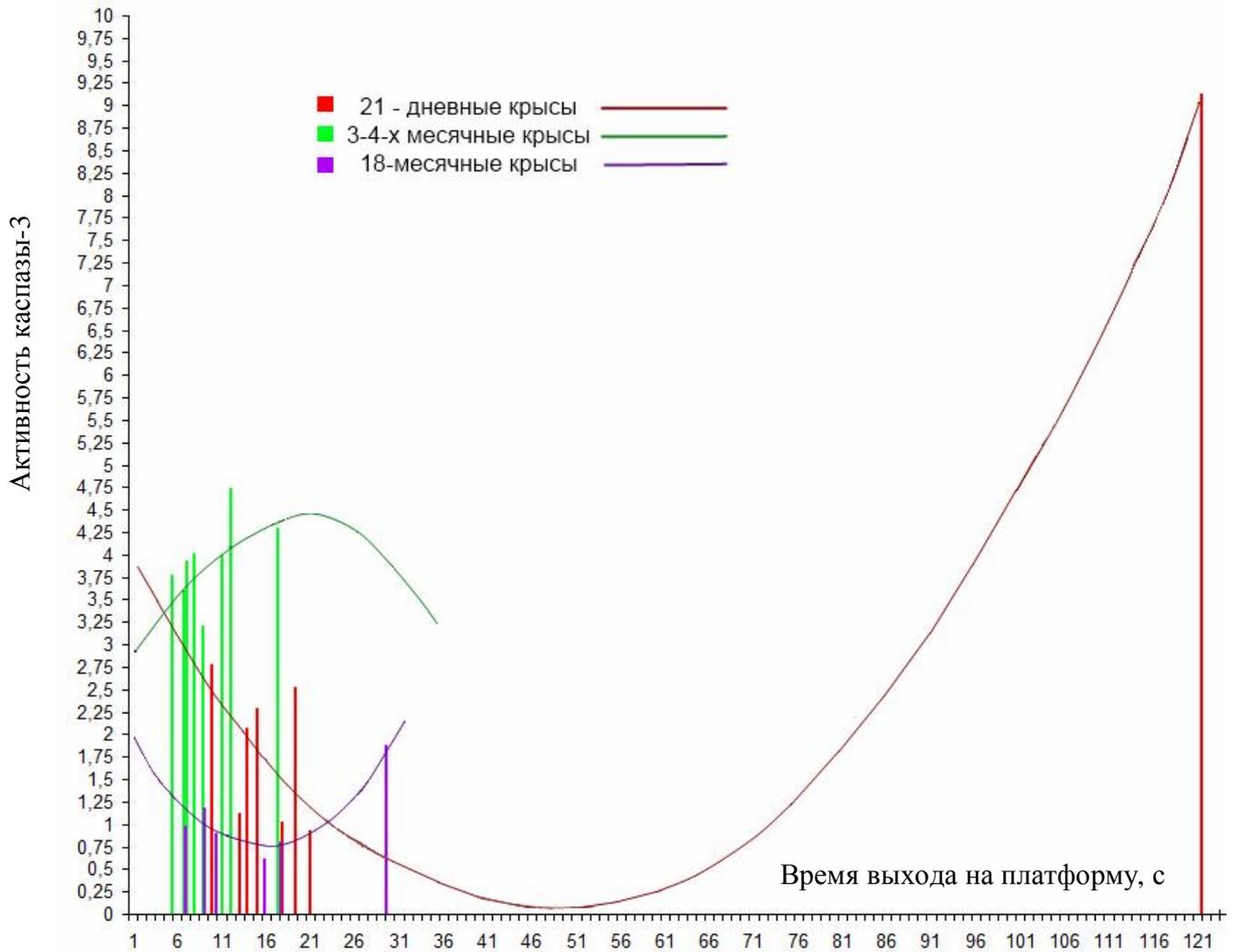


Рисунок 9 - График линии регрессии прогнозируемых и наблюдавшихся значений параметра «обучаемость»

Модель для параметра «обучаемость» в разных экспериментальных группах 21-дневных крыс имеет следующий вид:

$$F=0.0016827*x^2-0.1627192*x+3.9857419$$

Модель для параметра «обучаемость» в разных экспериментальных группах 3-4-месячных крыс имеет следующий вид:

$$F=-0.0042768*x^2+0.1698339*x+2.736771$$

Модель для параметра «обучаемость» в разных экспериментальных группах 18-месячных крыс имеет следующий вид:

$$F=0.0055051*x^2-0.1728361*x+2.1122098,$$

где x – показатель активности каспазы-3 в мозге крыс.

Таким образом, изменение обучаемости, а также и изменения в структуре поведения есть отражение многофакторных изменений на уровне метаболических процессов в мозге. Зависят эти изменения от

морфофункционального состояния систем мозга (в том числе возрастных особенностей нейрогенеза и метаболических процессов), а также от уровня устойчивости нейрохимических систем к действию стрессового фактора: состояния про- и антиоксидантной системы, энергетического и нейромедиаторного баланса, протеаз и т.д. Изменения на этих уровнях влияют на внутриклеточный ответ; в условиях внешнего воздействия в процесс включаются ранние гены, и далее, на основе уже накопленного опыта, изменяется активность поздних генов и происходит формирование нового поведенческого акта.

ВЫВОДЫ

1. В норме у крыс в структуре поведения с возрастом повышается время поведенческого сна, тогда как изменения других форм поведения (ориентировочного поведения, мелкой двигательной активности, груминга и релаксированного бодрствования) носят нелинейный характер. Возрастные особенности поведения крыс определяются динамикой метаболических процессов в мозге, в частности свободнорадикальных процессов, уровня нейромедиаторов и активности каспазы-3.

2. В модели пренатальной гипоксической гипоксии, происходящей на 13–20-е сутки гестационного периода, у 21-дневных крыс в структуре поведения преобладает ориентировочное поведение. В моделях острой гипоксической гипоксии у 3–4-месячных крыс и окклюзии сонных артерий у 18-месячных животных наблюдается повышение релаксированного бодрствования и снижение локомоторной активности. Данные изменения поведения животных разного возраста сопровождаются повышением активности каспазы-3, интенсификацией свободнорадикальных процессов и снижением содержания норадреналина и дофамина в структурах мозга.

3. В норме активность и экспрессия каспазы-3 в мозге крыс повышаются к 3–4-месячному возрасту, а к 18-месяцам значительно снижаются относительно предыдущих возрастных периодов. У 21-дневных и 18-месячных крыс в разных экспериментальных моделях между активностью каспазы-3 в мозге и обучаемостью существует зависимость, имеющая форму перевернутого колокола; у 3-4-месячных крыс характер этой зависимости противоположный.

4. У животных с леволатеральным профилем выше интенсивность свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий и способность к выработке условной реакции активного избегания относительно крыс с праволатеральным профилем. В модели окклюзии сонных артерий менее значительное нарушение условно-рефлекторной деятельности происходит у животных с леволатеральным профилем, у которых также установлено повышение содержания норадреналина в коре больших полушарий. Тогда как у крыс с праволатеральным профилем наблюдается снижение содержания моноаминергических нейромедиаторов; смещение баланса медиаторов происходит в сторону большей активности серотонинергической системы.

5. В модели окклюзии левой средней мозговой артерии у крыс с леволатеральным профилем установлена зависимость между объемом инфарктов мозга и неврологическим статусом. У животных с праволатеральным профилем в моделях окклюзии левой/правой средней мозговой артерии выявлены прямые корреляционные связи между объемами инфарктов мозга и весом крыс.

6. В норме введение пептидных препаратов способствует повышению активности каспазы-3 в структурах мозга крыс разного возраста и улучшению мнестических функций относительно животных контрольных групп. В моделях ишемии/гипоксии мозга введение пептидных препаратов повышает уровень обучаемости крыс и имеет возраст-зависимый характер. У 21-дневных крыс наибольшую эффективность влияния на латентное обучение показал дельтаран. В 3–4-месячном возрасте введение кортексина, пинеалона или дельтарана до моделирования ишемии/гипоксии мозга имело одинаковую эффективность. В 18-месячном возрасте лучше обучались крысы, которым вводили пинеалон и дельтаран.

7. В условиях моделирования ишемии/гипоксии мозга у животных 18-месячного возраста введение пептидных препаратов способствовало повышению времени поведенческого сна, снижению питьевого поведения, мелкой двигательной активности и груминга относительно крыс 3–4 месячного возраста и особенно 21-дневных животных. Сходное влияние на вертикальную и горизонтальную локомоторную активность и поведенческий сон у животных разного возраста оказало введение кортексина и дельтарана. Кортексин оказывает большее влияние на содержание дофамина, пинеалон – на уровень адреналина, а дельтаран – норадреналина в структурах мозга крыс разного возраста в моделях гипоксической гипоксии.

8. Выявленные возрастные особенности метаболических процессов в мозге определяют онтогенетические изменения в структуре поведения животных как в норме, так и в условиях ишемии/гипоксии мозга.

Список основных работ по теме диссертации:

В журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Лысенко А.В., Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В. Участие моноаминов в изменении представленности основных форм поведения крыс разного возраста при гипокинезии // *Нейрохимия*. – 2001. – № 2. – С. 132–141.

2. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Кательницкая Л.И., Демьяненко С.В., Иванченко Д.Н. Использование ингибитора индуцибельной NO-синтазы (AR-R17477) для коррекции изменений в балансе биогенных аминов и активности каспазы-3 при инфаркте миокарда у крыс // *Нейрохимия*. – 2006. – Т. 23. – № 3. – С. 1–5.

3. Ким Т.К., Рыжак Г.А., Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Влияние дельтарана на медиаторный баланс мозга молодых и старых крыс с леволатеральным профилем в условиях окклюзии сонных артерий // *Успехи геронтологии*. – 2007. – Т. 20. – № 2. – С. 138–142.

4. Ким Т.К., Рыжак Г.А., Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Коррекция дельтараном нарушений медиаторного баланса мозга крыс с леволатеральным профилем при нарушении мозгового кровообращения // Валеология. – 2007. – № 4. – С. 286–291.

5. Косенко Ю.В., Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В. Влияние функциональной межполушарной асимметрии и ингибитора индуцибельной NO-синтазы на показатели свободнорадикальных процессов в мозге у крыс при окклюзии сонных артерий // Валеология. – 2007. – № 4. – С. 20–25.

6. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Демьяненко С.В., Краснова И.Л., Михалева И.И. Адаптогенный эффект дельтарана в модели окклюзии сонных артерий // Нейрохимия. – 2007. – Т. 24. – № 2. – С. 166–171.

7. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Косенко Ю.В. Влияние ингибитора индуцибельной NO-синтазы на показатели свободнорадикальных процессов у крыс с разным латеральным профилем в условиях нарушения мозгового кровообращения // Нейрохимия. – 2008. – Т. 25. – № 3. – С. 1–6.

8. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Кошелева О.Н., Михалева И.И. Активность каспазы-3 и свободнорадикальные процессы в мозге крыс при инфаркте миокарда // Нейрохимия. – 2008. – Т. 25. – № 4. – С. 317–322.

9. Демьяненко С.В., Ивонина К.О., Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Эффекты кортексина и пинеалона на выживаемость, поведение и активность каспазы-3 старых крыс в модели окклюзии сонных артерий // Валеология. – 2010. – № 3. – С. 26–31.

10. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Ивонина К.О. Влияние введения коротких пептидов перед окклюзией сонных артерий на поведение и активность каспазы-3 в мозгу старых крыс // Успехи геронтологии. – 2011. – Т. 24. – № 1. – С. 74–79.

11. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Абрамчук В.А., Рыжак Г.А. Влияние короткого пептида на нейродегенеративные процессы у крыс, перенесших пренатальную гипоксию // Нейрохимия. – 2012. – Т. 29. – № 3. – С. 229–234.

12. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Абрамчук В.А., Рыжак Г.А., Демьяненко С.В. Влияние кортексина и пинеалона на содержание моноаминов в мозге крыс // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. – 2012. – № 4. – С. 65–69.

13. Карантыш Г.В., Менджерицкий А.М. Роль латерального профиля на выработку условной реакции активного избегания и свободнорадикальные процессы в мозге крыс // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 4 (3). – С. 646–649.

14. Карантыш Г.В., Абрамчук В.А., Рыжак Г.А., Менджерицкий А.М. Пептидная регуляция поведения и медиаторного баланса у старых крыс в условиях окклюзии сонных артерий // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6. – С. 1406–1410.

15. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В., Рыжак Г.А., Абрамчук В.А. Влияние пептидных геропротекторов на навигационное научение и систему каспазы-3 в структурах мозга крыс разного возраста // Успехи геронтологии. – 2013. – Т. 26. – № 2. – С. 252–258.

Монография

16. Менджерицкий А.М., Карантыш Г.В. Пептидная регуляция функций нервной системы. Онтогенетический аспект: монография. – Ростов н/Д: ИПО ПИ ЮФУ, 2011. – 214 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГГ – гипоксическая гипоксия, ГемГ – гемическая гипоксия, ДА – дофамин, ЛЛП – леволатеральный профиль, ЛСА – левая сонная артерия, НА – норадреналин, ОСА – окклюзия сонных артерий, ПЛП – праволатеральный профиль, ПСА – правая сонная артерия, СА – сонная артерия, СРО – свободнорадикальное окисление, СРП – свободнорадикальные процессы, ТБК-РП – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой, УРАИ – условная реакция активного избегания, R1 – поведенческий сон, R2 – горизонтальная локомоторная активность, R3 – вертикальная локомоторная активность, R4 – питьевое поведение, R5 – пищевое поведение, R6 – мелкая двигательная активность, R7 – груминг, R8 – релаксированное бодрствование.