



*Российская Академия Наук*

**XXVII НАУЧНАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО  
ФИЗИОЛОГИИ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И НЕЙРОФИЗИОЛОГИИ,  
посвященная 300-летию РАН**

**25 – 26 октября 2023 года**

1

---

**ТЕЗИСЫ УЧАСТНИКОВ КОНФЕРЕНЦИИ**

**Г. МОСКВА**

# ТЕСТ СТРУПА: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦВЕТОВОГО КРУГА И РЯДА

*Абдрахманова А.Ш.*

*Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма,  
Казань, Россия  
e-mail: [adeliaabd@mail.ru](mailto:adeliaabd@mail.ru)*

**Ключевые слова:** тест Струпа, когнитивный конфликт, внимание.

Тест Струпа широко используется для оценки избирательного внимания, скорости обработки информации и когнитивной гибкости [2]. Основная цель при выполнении данного теста – выбирать релевантный стимул игнорируя нерелевантный. К примеру, в классическом варианте данного теста необходимо выбрать цвет чернил, которыми написано слово или выбрать цвет по значению слова. Когнитивный конфликт, возникающий при выполнении данного теста, называют «эффектом Струпа» или «Струп-интерференцией» [1, 3]. Существуют различные модификации выполнения теста [4], каждая из которых имеет свои ограничения для достижения эффекта Струпа [1]. В данном исследовании рассмотрена возможность устранения одного из них.

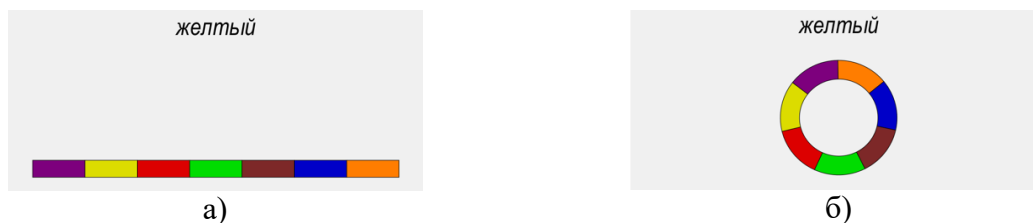
Имеющиеся варианты программ для выполнения теста Струпа с использованием компьютера (ПК), представляют возможность выбора цветового образца на дисплее посредством использования компьютерной мышки или кнопок клавиатуры, есть варианты использования иных – внешних устройств. Первый вариант является более удобным к использованию с точки зрения доступности проведения тестирования исследователем. Тем не менее, в имеющихся в свободном доступе программах не учтен фактор расположения цветовых образцов во время выполнения самого теста. Как правило, это расположенные в ряд цвета, необходимость нажатия на которые определяется случайным алгоритмом: ответ на следующий стимул может находиться как в соседней ячейке, так и в крайней ячейке (рис.1), следовательно время, необходимое для перемещения мышки между первым и вторым образцом в нужную цветовую зону, может сильно варьироваться.

1	2							1							2
---	---	--	--	--	--	--	--	---	--	--	--	--	--	--	---

**Рис.1.** Варианты двух крайних ответов на два стимула в тесте струпа при линейном расположении цветов

Чтобы нивелировать этот недостаток мы предлагаем использование не цветового ряда, а цветового круга. Так как в этом случае расстояние от курсора мышки, находящегося в середине круга, до любого из цветов будет примерно равным или менее вариативным из-за того, что от одного до следующего цвета чаще всего можно будет сократить путь.

В исследовании принимали участие 34 человека от 20 до 21 года. Тест Струпа выполнялся на ПК в написанной нами программе «Cognitive load test (CLT)». Участникам предъявлялись слова в виде названия цветов, представленные черным цветом. Задача участников – определение смысла предъявляемого слова и выбор соответствующего ему по смыслу цвета в цветовом ряду/цветовом кругу в течении 20 секунд (рис.2). Оценивались: общее количество стимулов, количество верно выбранных стимулов, среднее, максимальное и минимальное время реакции (мс). Методы и обработка данных осуществлялась с помощью программы IBM SPSS 20. Нормальность распределения проверялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения связанных выборок использовался критерий Вилкоксона. Результаты представили в виде медианы (Me) и верхних и нижних квартилей (Q1 и Q3).



**Рис.2.** (а) – Цветовой ряд; (б) – Цветовой круг.

Показано, что выполнение теста Струпа с использованием цветового круга по сравнению с цветовым рядом значительно отличается по ряду параметров: среднему (круг – 834 мс (739,5; 869,5), ряд – 884,5 (785,25; 991,75),  $p < 0,0003$ ) и максимальному времени реакции (круг – 1250 мс (1115,75; 1473,75), ряд – 1434 (1279,5; 1973),  $p < 0,005$ ); по количеству обработанных стимулов (круг – 20,5 (19,2; 23), ряд – 20 (17; 21),  $p < 0,038$ ); кроме этого при работе со цветовым кругом отмечалось большее количество верных выборов цвета (круг – 20 (19; 22,7), ряд – 19 (17; 20),  $p < 0,023$ ). Использование цветового круга может сделать тест Струпа более точным инструментом для оценки рассматриваемых параметров.

#### Список литературы:

1. Сопов, М. С. Феномен Струп-интерференции в контексте теорий лексического доступа. Вестник Санкт-Петербургского университета. Психология 8.1 (2018): 47-69.
2. Emek Savaş D. D., Yerlikaya D., Yener G. G., Öktem Tanör Ö. Validity, Reliability and Normative Data of the Stroop Test Çapa Version. Turk Psikiyatri Dergisi 31.1 (2020): 9-24.
3. Parris, B. A., Hasshim N., Wadsley M., Augustinova M., Ferrand L. The loci of Stroop effects: A critical review of methods and evidence for levels of processing contributing to color-word Stroop effects and the implications for the loci of attentional selection. Psychological Research 86.4 (2022): 1029-1053.
4. Viviani, G., Visalli, A., Finos, L., Vallesi, A., Ambrosini, E. A comparison between different variants of the spatial Stroop task: The influence of analytic flexibility on Stroop effect estimates and reliability." Behavior Research Methods (2023): 1-18.

## РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ САМКАМИ И САМЦАМИ КРЫС В ТЕСТЕ НА РАСПОЗНАВАНИЕ НОВЫХ ОБЪЕКТОВ

*Адаева З.А.<sup>1,2</sup>, Ситникова Е.Ю.<sup>1</sup>*

*1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 2 Московский Государственный Университет им.*

*М.В.Ломоносова, Москва*

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

**Ключевые слова:** эпизодическая память, неофилия, крысы.

Грызуны имеют естественную склонность к исследованию нового, т.е. склонны к неофилии. Их любопытство и стремление к исследованию окружающего пространства необходимо для выживания и направлено на поиск пищи, новых мест обитания и для укрытия от опасности. Тест на распознавание новых объектов (novel object recognition test, NORT) является быстрым и информативным способом оценки выраженности неофилии и долговременной эпизодической памяти у крыс. Данный тест не требует предварительной тренировки или использования подкрепления (положительного или отрицательного) для создания поведенческой мотивации. Уровень стресса в данном тесте сводится к минимуму, по сравнению с другими тестами, при помощи дополнительного времени на адаптацию. Большинство биомедицинских исследований в мире выполнено на самцах, а использование самок весьма ограничено. В настоящей работе представлено сравнение поведения самок и самцов в тесте NOR. Наши ранние исследования показали, что в тесте условнорефлекторного избегания, где уровень стресса очень высок, самки и самцы использовали разные поведенческие стратегии. В настоящей работе исследованы следующие гипотезы: (1) самки отличаются от самцов более высокой исследовательской активностью и склонностью к неофилии; (2) фаза эстрального цикла у самок не влияет на исследовательское поведение в NOR.

Проведено сравнение результатов выполнения теста распознавание новых объектов у самок и самцов взрослых крыс (8-10 месяцев). Тест проведен в течение трёх дней в звукоизолированном помещении. У самок определяли фазу эстрального цикла. За полчаса до начала теста животных приносили в экспериментальное помещение в домашних клетках для адаптации к условиям помещения. Тестирование проводили в черной квадратной арене площадью 1 м<sup>2</sup> с высотой стенок 28 см. После каждого животного арену очищали теплой водой и 50% спиртом для удаления запаховых меток, затем высушивали.

День 1: Привыкание к арене. Животные по одному находились в пустой чистой арене в течение 10 минут.

День 2: Привыкание к объекту. Через 24 часа животных помещали в том же порядке в арену с двумя экземплярами «Объекта 1» на 10 минут. После каждого животного объекты и арену протирали 50% этиловым спиртом и высушивали.

День 3: Тест. Через 24 часа животных помещали в арену со знакомым «Объектом 1» и новым «Объектом 2» на 10 минут. Проводили видео-запись поведения животных в арене с помощью веб-камеры.

Анализ. Представлены результаты предварительного анализа, полученные при ручной обработке видеозаписей (День 3). Сравнивали время контакта со знакомым «Объектом 1» (нахождение не дальше 2 см от объекта) и с новым «Объектом 2» (нахождение не дальше 2 см от объекта). Фиксировали число входов в эти области и время нахождения там. Обнаружено, что самки, в отличие от самцов, дольше исследовали новый объект (т.е. были более склонны к неофилии) и характеризовались повышенной локомоторной активностью.

# ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ СИСТЕМЫ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ

*Айрапетов М.И.<sup>1,2</sup>*

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

<sup>2</sup>Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия  
*e-mail: interleukin1b@gmail.com*

**Ключевые слова:** алкоголь, нейровоспаление, рифампицин, азитромицин, налоксон

Под нейровоспалением нейроиммунофизиологи понимают процесс активации нейроглиальных взаимодействий в ответ на длительное воздействие факторами экзо- и эндогенной природы, ведущее к изменению состояния гомеостаза в нервной ткани. Результатом активации клеток нейроглии служит высвобождение в экстраклеточное пространство ряда провоспалительных медиаторов, в задачи которых входит защита нервной ткани от воздействия неблагоприятных факторов, возвращая к состоянию гомеостаза. Существует гипотеза о том, что система toll-подобных рецепторов (TLR) может представлять собой одно из звеньев в патогенезе алкогольного нейровоспаления. В связи с этим существует интерес в изучении экспрессии генов данной системы на различных моделях алкоголизации (хроническая, пренатальное воздействие алкоголя (ПВА), подростковая (ПА) в различных отделах головного мозга. Кроме того, существует необходимость в фармакологической коррекции наблюдаемых изменений в данной системе потенциальными фармакологическими агентами.

5 Цель работы заключалась в исследовании состояния системы toll-подобных рецепторов (TLR) в различных структурах головного мозга при моделировании длительной алкоголизации *in vivo* у крыс и *in vitro* на культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, в ходе моделирования ПВА, а также выполнить фармакологическую коррекцию молекулярных механизмов системы TLR потенциальными фармакологическими агентами, такими как налоксон (NA), рифампицин (RIF), азитромицин (AZM), гинзенозиды (GINZ).

По результатам исследований на различных моделях длительной алкоголизации нами были получены сведения о состоянии экспрессии генов системы TLR в таких структурах головного мозга как медиальная префронтальная кора, энторинальная кора, гиппокамп, миндалина, стриатум, прилежащее ядро и гипоталамус. Получены сведения о состоянии данной системы у потомства с пренатальным воздействием алкоголя (ПВА) в лобных и височных отделах переднего мозга на ранних сроках постнатального развития. Были получены данные о том, что экспрессия генов системы TLR (*Tlr3, Tlr4, Tlr7, Hmgb1, Myd88, Ticam, Md2, Nfkb1, Irf3, Il1b, Ccl2, Il4, Il6, Tnfa, Ifny, Il10, Il11, Il13*) изменяется среди исследованных нами структур головного мозга при разных моделях длительной алкоголизации и при ПВА, хотя и разнонаправленно среди разных структур головного мозга. Данные, полученные на культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, также показали наличие изменений в экспрессии генов системы TLR.

Исследования на возможность фармакологическую коррекцию молекулярных механизмов системы TLR такими соединениями как NA, RIF, AZM и GINZ показали, что они обладают возможностью вносить изменения в патогенетические механизмы, наблюдаемые в системе TLR на уровне мРНК, что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения данных соединений с целью коррекции ими нейровоспалительного процесса, наблюдаемого в тканях ЦНС, при хроническом поступлении алкоголя в организм, а также при пренатальном воздействии алкоголя.

## РЕАКТИВНОСТЬ СЕНСОМОТОРНЫХ РИТМОВ ПРИ ТРЕНИНГАХ БОС

*Александрова С.Е.*

*Крымский Федеральный Университет им. В.И. Вернадского,  
Институт биохимических технологий, экологии и фармации  
e-mail: [SofiaAlex8@yandex.ru](mailto:SofiaAlex8@yandex.ru)*

**Ключевые слова:** электроэнцефалограмма, сенсомоторный ритм, тренировки биологической обратной связи.

Объектом исследования является ЭЭГ у взрослых испытуемых при восприятии эмоциональной лицевой экспрессии во время тренировок биологической обратной связи (БОС), а предметом исследования - реактивность сенсомоторных ритмов (СМР) ЭЭГ у взрослых испытуемых при восприятии эмоциональной лицевой экспрессии после тренировок биологической обратной связи.

Цель настоящей работы: анализ реактивности сенсомоторных ритмов ЭЭГ при восприятии эмоциональной лицевой экспрессии у здоровых взрослых испытуемых после тренировок биологической обратной связи.

Известно, что процессы высшей нервной деятельности, которые включает, в том числе, способность воспринимать мимику и эмоции других людей, применяются в психологии настроения и эмоций [Guntekin, Basar, 2014]. Бета-ритмы были наиболее ярко выражены в области миндалевидного тела при просмотре динамичных изображений, по сравнению со статическими выражениями лиц. Выраженность бета-ритмов в левом участке орбитофронтальной коры отрицательно коррелировала с временным курсом приятных лицевых выражений, которые положительно коррелируют с временным курсом счастливых лицевых выражений. Эти различия, обусловленные конкретными эмоциями, свидетельствуют о том, что наблюдаемые изменения влияют на обработку биологического движения мимических мышц [Symons et al., 2016].

В настоящее время широко используется биоуправление по сенсомоторному ритму. Стратегия ЭЭГ-БОС теоретически направлена на поиск механизмов подавления клеточной гиперполяризации в таламических кругах, а практически - на увеличение частоты ритмической активности в ЭЭГ. Таким образом, для достижения этих изменений от пациента требуется постепенно научиться регулировать уровень возбуждения в таламо-кортикальных кругах путем сосредоточения внимания на сигнале обратной связи [Serman, 1996]. Исследования показали, что подавление реактивности сенсомоторного мю-ритма можно интерпретировать как индекс активности СЗН человека. Ранее считалось, что подавление мю-ритма является результатом постсинаптической модуляции, которая связана с микронейронами в премоторной коре головного мозга. Люди способны понимать и воспринимать эмоции окружающих благодаря активации подобных нейронных процессов, что и у человека, испытывающего ту или иную эмоцию. Это объясняет способ восприятия выражений лиц других людей [Cooper et al., 2013].

Информация, связанная с эмоциями, легко распознаётся и может активировать в премоторных областях зеркальные нейроны, которые тормозятся наблюдением, что, в свою очередь, приводит к меньшему возбуждению сенсомоторной коры. Таким образом, при едва уловимых выражениях лица повышенная сенсомоторная активность может способствовать лучшему распознаванию действий и эмоций [Ozge Karakale et al., 2019].

Регистрацию ЭЭГ осуществляли при проведении тестовых заданий на активацию зеркальных нейронов головного мозга у взрослых испытуемых в возрасте 18-25 лет. Стимулы представляли собой фотографии и видеозаписи нейтральных и улыбающихся лиц из Амстердамского набора

динамических экспрессий (ADFES). За экспериментом следовали тренинги БОС, во время которых участникам было необходимо добиться смены выражения лица на экране с грустного на улыбающееся. Отведение ЭЭГ осуществляется по общепринятой методике с помощью современного электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр-5». ЭЭГ-потенциалы отводили монополярно, в соответствии с международной системой «10-20». Эксперимент проводился в две серии.

Задачи:

1. Выявить различия СМР до тренингов БОС и после ряда сеансов.
2. Сравнить активность СМР у участников, которые не проходили тренинги и у тех, кто регулярно их посещал.

На данный момент мы занимаемся сбором данных участников после ряда тренингов БОС. В перспективе, данные тренинги можно будет использовать для коррекции восприятия эмоциональной лицевой экспрессии у детей с расстройствами аутистического спектра, при которых, как правило, возникают с этим проблемы.

## ФОРМИРОВАНИЕ НОВЫХ КЛЕТОК В МОЗГЕ ВЗРОСЛЫХ МЫШЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

*Астахова О.Г.<sup>1,2</sup>, Иванова А.А.<sup>1,2</sup>, Комольцев И.Г.<sup>1,3</sup>, Гуляева Н.В.<sup>1,3</sup>, Лазуткин А.А.<sup>1,2</sup>*

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

<sup>2</sup> *Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

<sup>3</sup> *Бюджетное Учреждение Здравоохранения Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьёва Департамента Здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия*

*E-mail: [olga020302@gmail.com](mailto:olga020302@gmail.com)*

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, глиогенез, стриатум, таламус, оптический тракт.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) приводит к серьезным изменениям в функционировании ЦНС [1]. Помимо активной нейродегенерации, изменяется работа стволовых клеток и нейрогенез в главных нейрогенных нишах [2]. При этом судьба делящихся клеток в других областях мозга остается не до конца ясной. Потенциальный пролиферативный ответ этих структур мог бы стать мишенью для терапевтического воздействия. Таким образом, целью данной работы было изучить деления клеток и пути их дифференцировки вне главных нейрогенных зон мозга через 1 и 7 недель после ЧМТ у мышей.

Эксперимент проводили на гетерозиготных самцах мышей линии Nestin-GFP (n = 36) в возрасте 3-4 месяцев. Животные были разделены на 3 группы: «Домашняя клетка» – мыши, взятые из домашней клетки, которым не проводили никакие манипуляции, «Ложная операция» – животные, которым была проведена операция, но не наносили удар, и «Травма» – животные, которым наносили повреждение. Для воспроизведения ЧМТ использовали модель латерального гидродинамического удара силой около 2 атм. и повреждали правое полушарие (Bregma -2 мм, Lateral 2 мм). Через 1 или через 7 недель с момента ЧМТ животным вводили EdU в дозе 40 мг/кг i.p. за 2 часа до перфузии. Далее на сагиттальных срезах правого полушария оценивали плотность EdU<sup>+</sup> клеток на двух равноудаленных от места повреждения уровнях: латеральном и медиальном. На латеральном уровне подсчет проводили в соматосенсорной, инсулярной, пириформной и энторинальной коре, а также в стриатуме и миндалине. На медиальном – во фронтальной ассоциативной и вторичной моторной коре, стриатуме, таламусе, черной субстанции, оптическом тракте и четверохолмии. Поиск колокализаций EdU<sup>+</sup> клеток в избранных структурах мозга проводили с различными наборами клеточных маркеров: маркерами нейро- и астроглиогенеза – Nestin-GFP и GFAP через 1 и 7 недель после ЧМТ; маркерами олигодендрогенеза – Nestin-GFP и Olig2 через 1 и 7 недель после ЧМТ; маркерами микроглиогенеза – Nestin-GFP и Iba1 через 1 неделю после ЧМТ.

Было показано увеличение плотности EdU<sup>+</sup>-клеток в группе «Травма» в стриатуме на латеральном уровне, в таламусе, черной субстанции и оптическом тракте на медиальном уровне в сравнении с двумя контрольными группами. В энторинальной, фронтальной ассоциативной и вторичной моторной коре различия обнаружены только в сравнении с группой «Домашняя клетка». В инсулярной коре ложнооперированных животных показано увеличение плотности делящихся клеток в сравнении с животными, взятыми из домашней клетки. Через 7 недель после удара только в одной структуре показано увеличение плотности EdU<sup>+</sup> клеток в сравнении с двумя контрольными группами – в оптическом тракте. Дальнейший анализ проводили в стриатуме, черной субстанции, оптическом тракте и в латеродорсальном и заднем латеральном ядрах таламуса. Через 1 неделю после удара показано увеличение числа EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> GFAP<sup>+</sup> и EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> Iba1<sup>+</sup> клеток во всех избранных структурах кроме оптического тракта, в сравнении с двумя контрольными группами. Также в стриатуме обнаружено



увеличение числа EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>-</sup> Olig2<sup>+</sup> клеток. Кроме того, показано увеличение числа EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> GFAP<sup>+</sup> клеток в стриатуме и черной субстанции и EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> GFAP<sup>-</sup> в латеродорсальном ядре таламуса в сравнении с группой «Домашняя клетка». Увеличения числа делящихся клеток, колокализованных с исследованными маркерами в оптическом тракте через 1 неделю после удара не произошло, их прирост связан с клетками другого типа. Через 7 недель после ЧМТ различия показаны лишь в оптическом тракте: произошло увеличение числа EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>-</sup> GFAP<sup>+</sup>, EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> GFAP<sup>+</sup> и EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> Olig2<sup>+</sup> клеток в сравнении с двумя контрольными группами и EdU<sup>+</sup> Nestin-GFP<sup>+</sup> GFAP<sup>-</sup> клеток в сравнении с группой «Домашняя клетка».

Таким образом, было показано увеличение клеточной пролиферации за пределами главных нейрогенных зон через 1, но не через 7 недель после ЧМТ, за исключением оптического тракта, в котором было выявлено еще большее увеличение числа делящихся клеток к 7 неделе после удара. Большая часть из выявленных клеток в избранных структурах поврежденного полушария была обнаружена среди популяций астроцитов и микроглии. Так же, в некоторых регионах мозга выявили увеличение числа олигодендроцитов и прогениторных клеток, не колокализованных ни с одним из выбранных глиальных маркеров.

Список литературы:

1. Dehghanian, F., Soltani, Z., & Khaksari, M. Can Mesenchymal Stem Cells Act Multipotential in Traumatic Brain Injury? // Journal of Molecular Neuroscience. 2020 – Vol. 70 – № 5, PP. – 677–688. doi:10.1007/s12031-019-01475-w
2. Richardson, R. M., Sun, D., & Bullock, M. R. Neurogenesis After Traumatic Brain Injury. // Neurosurgery Clinics of North America. – 2007 – Vol. 18 – № 1 – PP – 169–181. doi:10.1016/j.nec.2006.10.007

9

---

***Исследование выполнено при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект» и гранта РФФИ 19-29-04173.***

# ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ РАЗНОЙ МОДАЛЬНОСТИ В МЕТОДИКЕ С ФИКСИРОВАННЫМИ ИНТЕРВАЛАМИ ПОДКРЕПЛЕНИЯ НА КРЫСАХ

Ахмиров Р.Т., Ребик А.А., Брошевицкая Н.Д., Зайченко М.И., Сысоева О.В.

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия  
e-mail: rauf.akhmirov@ihna.ru*

**Ключевые слова:** импульсивность, фиксированные интервалы подкрепления, восприятие времени.

Восприятие времени существенно влияет на принятие решений, а уровень импульсивности может отражать внутреннее течение времени [1]. Процесс обработки субъективного течения времени требует вовлечения множество структур мозга и нейромедиаторных систем, в частности, серотонинергической системы [2]. Нарушения в этом восприятии сопровождаются различными психическими расстройствами, что делает изучение нейромедиаторной регуляции восприятия времени перспективным направлением исследования.

Разброс поведенческих реакций у животных связан с особенностями регуляции нервной системы. Важный адаптивный механизм заключается в способности формировать временные рамки для реакций на раздражители. В ходе обучения эти рамки обретают очерченные временные границы, что важно для предсказания реакций и выживания в целом [3]. Для изучения влияния препаратов разной модальности на крысах нами были протестированы эффекты системного введения и зафиксирована динамика активности животных при прохождении теста с фиксированными интервалами подкрепления (Fixed Interval Peak procedure). Для анализа динамики активности использовались такие показатели, как общая скорость ответов, положение пиковой активности во времени и скорость пиковой активности, а также влияние серотонинергических препаратов и препаратов, изменяющих частоту сердечных сокращений (ЧСС).

В опытах было использовано 7 самцов крыс линии Вистар возрастом 6 мес. Эксперимент проводили в "Five choice chamber" (MazeEngineers, US). Для этого была разработана программа, задающая временные интервалы в экспериментальном протоколе и собирающая информацию о времени и количестве ответов. В течение первых двух дней проходила адаптация к установке и обучение. В качестве пищевого подкрепления использовали стандартные пеллеты 45 мг производства фирмы "BioServ" (США). Экспериментальная сессия состояла из 40 проб и проводилась по стандартной методике 5 дней в неделю [4]. Внутри одной сессии было 75% подкрепляемых и 25% неподкрепляемых попыток – последние использовались для анализа. Каждая проба начинается с включения света в установке и 10 секундного неподкрепляемого интервала. Спустя первые 10с наступает период длительностью 30с, в течение которого первый ответ в случае подкрепляемой пробы приводит к завершению попытки, выключению света и выпадению пеллеты, после чего начинается интервал между пробами длительностью 15-25с. В случае анализируемых неподкрепляемых попыток свет горел все 40с до конца пробы, но пищевое подкрепление не предоставлялось. Для модуляции поведения использовали внутрибрюшинное введение препаратов, снижающих ЧСС (Метопролол, 30мг/кг), повышающих ЧСС (Кофеин, 50мг/кг), СИОЗС (Кломипрамин, 7мг/кг) и предшественника серотонина (5-hydroxytryptophan, 50мг/кг). Для обработки результатов использовали программный пакет Statistica 10.0. Экспериментальные сессии для каждого животного усредняли по неделям, значения без введения препаратов сравнивали со значениями после введения тестом согласованных пар Уилкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test)

Анализ показал достоверное снижение количества ответов во время пиковой активности при использовании метопролола ( $p < 0,05$ ) и 5НТР ( $p < 0,02$ ). Помимо этого, применение 5НТР сопровождается снижением средней скорости ответов ( $p < 0,02$ ). Полученные данные демонстрируют эффективность этих двух препаратов в регуляции импульсивного поведения животных. При анализе времени пиковой активности не были обнаружены значимые различия для используемых препаратов. Однако в перспективе дальнейшее увеличение выборки и анализ эффектов у каждого животного на основе их импульсивности поможет выявить индивидуальные особенности воздействия препаратов на импульсивных и неимпульсивных особей. Разделение животных на группы и анализ их индивидуальных особенностей позволит выявить более тонкие закономерности в регуляции внутреннего течения времени у животных под воздействием серотонинергических препаратов и препаратов, модулирующих интроцептивные показатели.

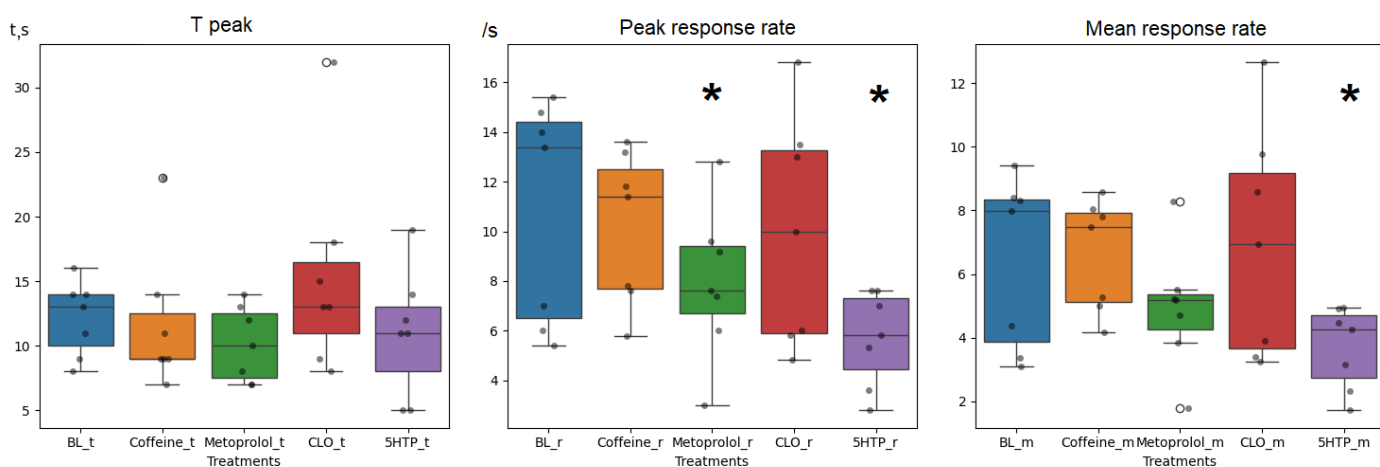


Рис 1. Сравнение значений для времени пиковой активности (T peak), пикового количества ответов (peak response rate) и средней скорости (mean rate response) для базовой активности без введений (BL), с введением кофеина, метопролола, кломипрамина (CLO) и предшественника серотонина (5НТР). Звездочка указывает на достоверные отличия анализируемой пробы от базовой активности без введения препаратов ( $p < 0,05$ ).

#### Список литературы:

- [1] M. Wittmann and M. P. Paulus, "Decision making, impulsivity and time perception," *Trends Cogn Sci*, vol. 12, no. 1, pp. 7–12, Jan. 2008, doi: 10.1016/j.tics.2007.10.004.
- [2] P. V. Agostino, D. A. Golombek, and W. H. Meck, "Unwinding the molecular basis of interval and circadian timing," *Front Integr Neurosci*, vol. 5, 2011, doi: 10.3389/fnint.2011.00064.
- [3] C. A. Winstanley, "The utility of rat models of impulsivity in developing pharmacotherapies for impulse control disorders," *Br J Pharmacol*, vol. 164, pp. 1301–1321, 2011, doi: 10.1111/bph.2011.164.issue-4.
- [4] F. Balci and D. Freestone, "The Peak Interval Procedure in Rodents: A Tool for Studying the Neurobiological Basis of Interval Timing and Its Alterations in Models of Human Disease," *Bio Protoc*, vol. 10, no. 17, 2020, doi: 10.21769/bioprotoc.3735.

## ИНТЕРЛЕЙКИН-6 В КАЧЕСТВЕ ПРЕДИКТОРА ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА И ОТДАЛЕННЫХ СУДОРОЖНЫХ ПРИСТУПОВ ПОСЛЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

*Балан С.И.<sup>1,2</sup>, Комольцев И.Г.<sup>2,3</sup>, Махмудов М.М.<sup>2</sup>, Тимохова А.В.<sup>2</sup>, Синкин М.В.<sup>4</sup>, Талыпов А.Э.<sup>4</sup>, Дружкова Т.А.<sup>2</sup>, Гехт А.Б.<sup>2</sup>, Гуляева Н.В.<sup>2,3</sup>*

*<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия<sup>2</sup> ГБУЗ Научно-практический психоневрологический центр им. З. П. Соловьёва ДЗМ, Москва, Россия<sup>3</sup> ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия, <sup>4</sup> НИИ скорой помощи имени Н.В. Склифосовского, Москва, Россия  
E-mail: [balan.sofya2016@yandex.ru](mailto:balan.sofya2016@yandex.ru)*

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма (ЧМТ).

12 Черепно-мозговая травма (ЧМТ) - одна из ведущих причин смерти и инвалидизации в мире. За 2016 г. по всему миру было выявлено 27,08 миллионов новых случаев ЧМТ (369 случаев на 100.000 населения), что на 8,4% больше, чем в 1990 г. При этом 8,1 миллионов пациентов в исходе травмы остались инвалидами. В России ежегодно встречается порядка 700.000 новых случаев ЧМТ, из которых 50 тыс. завершаются смертью пациента и около 50 тыс. - инвалидизацией. С точки зрения патофизиологии, ЧМТ представляет из себя динамический процесс - первичное механическое повреждение запускает вторичную воспалительную реакцию, которая, в свою очередь, опосредует как увеличение продукции провоспалительных цитокинов, так и изменение экспрессии нейротрофических факторов. Исследования показывают, что острый период ЧМТ сопряжен с увеличением уровня плазматического интерлейкина-6 (ИЛ-6), одного из главных провоспалительного цитокинов, и уменьшением уровня плазматического BDNF (brain-derived neurotrophic factor), нейротрофический фактор, ответственный за процессы нейропластичности. Однако, несмотря на глобальную значимость ЧМТ, имеется небольшое количество экспериментальных и клинических исследований, сопоставляющих изменение уровней плазматических ИЛ-6 и BDNF в отдаленном периоде травмы с показателями смертности и посттравматических приступов. Таким образом, задачей данного исследования являлась оценка уровней ИЛ-6 и BDNF в остром и отдаленном периодах ЧМТ и сопоставление их уровней с летальным исходом и наличием острых и отдалённых посттравматических судорожных приступов.

Исследование проведено на 380 пациентах, включённых в когортное лонгитудинальное проспективное исследование, проводимое на базе НПЦ им З.П. Соловьёва, и госпитализированных с острой ЧМТ в НИИ им Н.В. Склифосовского. Уровни ИЛ-6 и BDNF в плазме крови определяли в остром периоде и через 1 месяц после травмы. Сравнение групп проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента, для корреляционного анализа использовали тест Пирсона.

В остром периоде ЧМТ уровень ИЛ-6 был выше ( $p=0.0001$ ), а уровень BDNF - ниже, чем через месяц спустя ( $p=0.004$ ). Выявлена обратная зависимость между уровнями ИЛ-6 и BDNF в остром периоде ( $r=-0.3$ ,  $p=0.001$ ). Обнаружено, что уровень ИЛ-6 был выше у пациентов с развитием летального исхода после ЧМТ ( $4\pm 1$  пг/моль у выживших против  $346\pm 148$  пг/моль у умерших пациентов,  $p=0.003$ ). Нами не было установлено, что уровень ИЛ-6 связан с появлением приступов в раннем периоде после травмы (первые 7 дней), однако, повышенный уровень ИЛ-6 через месяц после ЧМТ был достоверно ассоциирован с судорожными приступами в отдаленном периоде ( $3\pm 1$  пг/моль у пациентов без приступов против  $5\pm 1$  пг/моль

у пациентов с приступами,  $p = 0.01$ ). Для BDNF не было установлено связи с летальным исходом или развитием приступов в отдаленном периоде.

Вторичная воспалительная реакция, запускаемая в ответ на механическое повреждение при ЧМТ, отражается ростом ИЛ-6 и снижением BDNF в остром периоде. Через месяц после ЧМТ уровень ИЛ-6 снижается, а уровень BDNF повышается, что может отражать развитие восстановительных реакций. Высокие показатели ИЛ-6 как при поступлении, так и в отдаленном периоде ассоциированы с неблагоприятным прогнозом в исходе ЧМТ. Полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы для прогнозирования исходов ЧМТ и разработки новых стратегий ее лечения.

# КОМПЛЕКСНЫЙ БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ТРАНСКРИПТОМА И ПРОТЕОМА ДЛЯ ПОИСКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРИ ИНДУКЦИИ ФЕРРОПТОЗА

*Баранникова М.В.<sup>1</sup>, Ледяева В.С.<sup>2</sup>, Сулягин В.К.<sup>2</sup>, Корженевский Д.А.<sup>3</sup>, Шохина А.Г.<sup>2,3</sup>,  
Кудряшова О.М.<sup>3</sup>*

*1 Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия*

*2 Лаборатория экспериментальной онкологии НИИ трансляционной медицины РНИМУ им.  
Н.И.Пирогова, Москва, Россия*

*3 Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА, Москва, Россия*

*e-mail: [barannikova.mv@phystech.edu](mailto:barannikova.mv@phystech.edu)*

**Ключевые слова:** ферроптоз, антиоксидантная система, индукторы ферроптоза, РНК секвенирование, протеом.

Одним из описанных механизмов, связанных с нейродегенерацией является ферроптоз, железозависимый тип программируемой клеточной гибели, обусловленный перекисным окислением липидов[1]–[3]. При моделировании ферроптоза и нейродегенераций используют химические индукторы. Среди наиболее популярных индукторов можно выделить несколько, запускающих клеточную гибель по разным модальностям: ингибированием глутатионпероксидазной системы GPX4 (ML210), остановкой синтеза глутатиона (BSO) и блокировкой Xc- антипортерной системы (Erastin). Однако до сих пор не было работ, где было бы проведено сравнение между данными индукторами. Целью данной работы было изучить на молекулярном уровне изменения в транскрипте и протеоме при индукции ферроптоза различными реагентами.

В работе ферроптоз индуцировался на клеточной линии Pfa-1 с помощью трех реагентов: Era - эрастина, BSO – L-бутионинсульфоксимины и ML210. Через 24 часа (ранний ответ) и 48 часов (поздний ответ) после индукции ферроптоза, материал направлялся отдельно на РНК секвенирование и отдельно на полное (антаргетное) определение протеома методом shotgun масс-спектрометрии. Также, в качестве контроля, анализировались образцы до воздействия (0 часов). Был проведен биоинформатический анализ полученных результатов об изменении транскриптома (данные РНК секвенирования) и протеома (данные масс-спектрометрии) при индукции ферроптоза Era, BSO, ML210 при раннем ответе (24 часа) и позднем ответе (48 часов).

Анализ дифференциальной экспрессии (ДЭ) генов по данным РНК секвенирования выявил ранее описанные гены-драйверы ферроптоза, в их числе, например, гены Hmox1 (heme oxygenase1) ( $\log_{FC_{24h}}BSO=0.94$ ,  $\log_{FC_{24h}}Era=1.06$ ), DuoX1 (dual oxidase1) ( $\log_{FC_{24h}}BSO=1.04$ ,  $\log_{FC_{24h}}Era=0.86$ ) как повысившиеся при BSO и Era. Как для данных транскриптома, так и для данных протеома наблюдалось увеличение количества ДЭ генов от раннего к позднему ответу, например, при воздействии Era число генов увеличилось с 57 up-regulated и 95 down-regulated до 985 и 457 соответственно (в РНК) и с 202 up-regulated и 248 down-regulated до 370 и 481 соответственно (в протеоме). При этом наблюдались как общие изменяющиеся гены, так и отличающиеся между способами индукции: ген, кодирующий белок глутатиона S-трансферазы P (Gstp1) и участвующий в антиоксидантной системе клетки, значительно увеличивался на протеоме при индукции всеми реагентами ( $\log_{FC_{24h}}BSO = 1.62$ ,  $\log_{FC_{24h}}Era = 2.20$ ,  $\log_{FC_{24h}}ML210 = 1.92$ ). Для ДЭ генов проводился анализ насыщения по термам генной онтологии, так на раннем ответе при воздействии Era было выявлено увеличение белков, отвечающих за активность оксидоредуктазной системы (26 генов) и трансмембранный

транспорт (20 генов). Причем на позднем ответе Era количество белков, отвечающих за активацию этих путей, увеличилось до 60 и 42 генов соответственно. При сравнении уровня экспрессии по данным транскриптома, наблюдалось также увеличение экспрессии генов транспортеров при индукции Era (гены Slc7a1, Slc7a5, Slc1a4, Slc25a11, Slc25a12).

На данных транскриптома также проводился анализ активности программ транскрипционных факторов (ТФ), определяемый по изменению уровню экспрессии их генов мишеней с помощью программы Decoupler[4]. Интересно, что изменение транскриптома при воздействии ML210 показало активацию ТФ Srebf1, Srebf2 - ключевых регуляторов активности мевалонатного пути, в то время как воздействие Era приводит к активности ТФ Atf4, ключевого регулятора генов-транспортеров.

Данная работа является первым, по нашим данным, исследованием по сравнению на молекулярном уровне изменений транскриптома и протеома при индукции ферроптоза путем воздействия на различные антиоксидантные элементы (ингибирование глутатионпероксидазной системы GPX4, остановкой синтеза глутатиона и блокировка Xc- антипортерной системы) в двух временных точках. Наблюдаемые сходства и различия клеточного ответа на уровнях транскриптома и протеома при разных способах индукции ферроптоза могут помочь в поиске потенциальных биомаркеров и понимании механизмов патогенеза нейродегенеративных заболеваний.

Список литературы:

[1] L. Mahoney-Sánchez, H. Bouchaoui, S. Ayton, D. Devos, J. A. Duce, и J.-C. Devedjian, «Ferroptosis and its potential role in the pathophysiology of Parkinson's Disease», *Prog. Neurobiol.*, т. 196, с. 101890, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101890>.

[2] N. Majerníková, W. F. A. den Dunnen, и A. M. Dolga, «The Potential of Ferroptosis-Targeting Therapies for Alzheimer's Disease: From Mechanism to Transcriptomic Analysis.», *Front. Aging Neurosci.*, т. 13, с. 745046, 2021, doi: 10.3389/fnagi.2021.745046.

[3] S. K. Ryan и др., «Microglia ferroptosis is regulated by SEC24B and contributes to neurodegeneration.», *Nat. Neurosci.*, т. 26, вып. 1, сс. 12–26, янв. 2023, doi: 10.1038/s41593-022-01221-3.

[4] P. Badia-i-Mompel и др., «decoupleR: ensemble of computational methods to infer biological activities from omics data», *Bioinforma. Adv.*, т. 2, вып. 1, с. vbac016, мар. 2022, doi: 10.1093/bioadv/vbac016.

## ПОВЫШЕННЫЙ УРОВЕНЬ КОРТИЗОЛА ПОСЛЕ ЧЕРЕПНОЙ МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ АССОЦИИРОВАН С ЛЕТАЛЬНЫМ ИСХОДОМ И НАЛИЧИЕМ ОСТРЫХ СУДОРОЖНЫХ ПРИСТУПОВ

*Беликова А.А.<sup>1,2</sup>, Комольцев И.Г.<sup>2,3</sup>, Махмудов М.М.<sup>2</sup>, Тимохова А.В.<sup>2</sup>, Дружкова Т.А.<sup>2</sup>,  
Талыпов А.Э.<sup>4</sup>, Синкин М.В.<sup>4</sup>, Гехт А.Б.<sup>2</sup>, Гуляева Н.В.<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup> *Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,  
факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия*

<sup>2</sup> *ГБУЗ Научно-практический психоневрологический центр им. З. П. Соловьева ДЗМ,  
Москва, Россия*

<sup>3</sup> *ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

<sup>4</sup> *НИИ скорой помощи имени Н.В. Склифосовского, Москва, Россия*

*E-mail: [anastasia\\_belikova.01@mail.ru](mailto:anastasia_belikova.01@mail.ru)*

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма (ЧМТ).

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из ведущих причин смерти в мире. Повышение уровня кортизола в остром периоде ЧМТ считается важным связующим звеном между острым повреждением, поздними посттравматическими осложнениями, такими как посттравматические эпилептические приступы, и летальным исходом ЧМТ. Целью работы являлись оценка динамики уровня кортизола в течение 2 лет после ЧМТ, выяснение роли кортизола в развитии летального исхода после ЧМТ в отдаленном периоде, а также связь уровня гормона с наличием острых и отдалённых посттравматических эпилептических приступов.

Исследование проведено на пациентах, включённых в лонгитудинальное проспективное когортное исследование, проводимое на базе ГБУЗ ДЗМ НПЦ им. Соловьева, а также в НИИ им. Н.В. Склифосовского. В исследование включено 380 пациентов. Уровень кортизола в крови определяли в остром периоде и через 1, 6, 12 и 24 месяцев после травмы. Выживаемость пациентов и наличие острых и отдалённых судорожных приступов после ЧМТ отслеживали в течение двух лет. Сравнение групп проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни.

Уровень кортизола был повышен в остром периоде ЧМТ по сравнению с показателями через 1 месяц ( $p=0.03$ ). Нами была установлена связь между повышенным уровнем кортизола в остром периоде после ЧМТ и летальным исходом в течение последующих 6 месяцев ( $415 \pm 33$  нмоль/л у выживших пациентов против  $714 \pm 67$  нмоль/л у умерших,  $p=0,002$ ). Также было выяснено, что кортизол у пациентов с наличием судорожных приступов в первые сутки после ЧМТ, оставался повышен при измерении через 1 месяц после травмы ( $383 \pm 12$  нмоль/л у пациентов без судорожных приступов в первые сутки после ЧМТ против  $663 \pm 111$  нмоль/л у пациентов с приступами,  $p = 0,01$ ).

Повышение уровня кортизола в крови в остром периоде ЧМТ может достоверно предсказывать летальный исход ЧМТ в течение последующих 6 месяцев. При этом судорожные приступы, наблюдаемые в первые сутки после ЧМТ, являются важным фактором риска повышенного уровня кортизола в отдалённом периоде травмы.



# ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ РЕЧИ ДЕТЕЙ 5-6 ЛЕТ СО СМЕШАННЫМИ СПЕЦИФИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

*Ведерникова И.И.*

*Санкт-Петербургский Государственный университет, Россия*

*e-mail: [st085372@student.spbu.ru](mailto:st085372@student.spbu.ru)*

**Ключевые слова** эмоциональная речь, частота основного тона, перцептивный анализ, дети, смешанные специфические расстройства психологического развития.

Одним из подходов к исследованию эмоционального развития детей является изучение проявления эмоций в их голосе и речи. В группе по изучению детской речи СПбГУ проводится анализ лингвистических, перцептивных, акустических характеристик эмоциональной речи детей с типичным и атипичным развитием (Ляксо и др., 2015-2023). По Международной классификации болезней (МКБ-10) смешанные специфические расстройства психологического развития (СР) – это нарушения, представляющие собой сочетание специфических расстройств развития речи и языка, учебных навыков и моторики, при которых дефекты выражены в равной степени, что не позволяет вычленить какой-либо из них как основной диагноз. Значительная часть детей дошкольного возраста, воспитывающихся в условиях детского дома, имеет данный диагноз (Фролова, Ляксо, 2020).

Цель работы – определить характеристики эмоциональной речи детей 5-6 лет с диагнозом смешанные специфические расстройства психологического развития.

17 В исследовании приняли участие 6 детей 5-6 лет; 2 ребенка воспитываются в семьях, 4 ребенка – в условиях детского дома. Аудио запись речи и видеозапись поведения, мимики детей проведена в детском саду и детском доме в модельных ситуациях, соответствующих тестовым заданиям методики CEDM (Child Emotional Development Method - Lyakso et al., 2022), разработанной для изучения развития эмоциональной сферы детей: диалог с экспериментатором со стандартным набором вопросов, игра с игрушками, описание картинок, просмотр мультфильма и беседа по нему. Общая продолжительность сессии записи для одного ребенка – до 60 минут. Проведен экспресс- анализ видео и аудио записей детей. На основании анализа видео один эксперт: 1. выбирал фрагменты, на протяжении которых дети проявляли эмоциональные состояния: нейтральное (спокойное), радость, печаль, гнев; 2. с использованием программы «Cool Edit Pro» из аудиозаписей вырезал фрагменты (283 высказывания детей), соответствующие видео фрагментам: 209 высказываний в нейтральном состоянии, 48 – в состоянии радости, 15 – печали, 11 – гнева. Прослушивание вырезанных аудио фрагментов и аннотирование эмоциональной речи детей проводили 2 эксперта, которые отобрали для дальнейшего анализа 234 высказывания детей – 169 в нейтральном состоянии, 42 – в состоянии радости, 15 – печали, 8 – гнева. Инструментальный анализ высказываний проводили в звуковом редакторе «Cool Edit Pro». Определяли значения частоты основного тона (ЧОТ), максимальные и минимальные значения ЧОТ, диапазон ЧОТ высказываний детей (как разницу между максимальными и минимальными значениями ЧОТ высказывания). С целью изучения возможности распознавания взрослыми эмоционального состояния детей с СР при прослушивании их речи проведён перцептивный эксперимент, в котором приняли участие 10 взрослых носителей русского языка (аудиторов, возраст  $25,8 \pm 10,9$  лет). Создана тестовая последовательность (аудио тест), содержащая высказывания, произнесённые детьми в разных эмоциональных состояниях (по 6 высказываний для каждого эмоционального состояния). Перед аудиторами стояла задача определить эмоциональное состояние детей при прослушивании аудио теста.

При аннотировании эмоциональной речи детей максимальное согласие между двумя экспертами выявлено для высказываний детей, в состоянии печали. Показано, что значения ЧОТ высказываний детей в состоянии радости и гнева, характеризуются более высокими средними и максимальными значениями ЧОТ, по сравнению с высказываниями, произнесенными детьми в нейтральном состоянии и состоянии печали. Средние значения ЧОТ высказываний детей в состоянии радости -  $356 \pm 108$  Гц, в состоянии гнева -  $413 \pm 91$  Гц, в состоянии печали -  $297 \pm 62$  Гц, нейтральном состоянии -  $315 \pm 62$  Гц. Высказывания детей в состоянии печали характеризуются низкими значениями диапазона ЧОТ по сравнению с другими эмоциональными состояниями. Показаны особенности распознавания взрослыми эмоционального состояния детей при прослушивании их высказываний: лучше аудиторы распознавали состояние гнева (75% правильных ответов аудиторов), менее успешно - печаль (64%), нейтральное состояние (63%), радость (62%). Средняя вероятность распознавания аудиторами эмоциональных состояний при прослушивании высказываний детей, воспитывающихся в условиях семьи (0,79), выше, чем при прослушивании высказываний детей, воспитывающихся в детском доме (0,58). Определены значения ЧОТ для эмоциональных высказываний детей, распознанных аудиторами с высокой вероятностью ( $p > 0,75$ ): значения ЧОТ для высказывания в состоянии гнева – максимальны (422 Гц). Таким образом, в проведенном исследовании получены данные об акустических и перцептивных характеристиках высказываний детей с диагнозом СР в эмоциональных состояниях – нейтральное, радость, печаль, гнев.

## АКТИВАЦИЯ КАСКАДА WNT ЧАСТИЧНО КОМПЕНСИРУЕТ НАРУШЕНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ У МЫШЕЙ ЛИНИИ 5xFAD

*Волобуева Ю.Е.*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия.  
E-mail: i@juvolobueva.ru*

**Ключевые слова:** гиппокамп; WNT каскад; долговременная потенция; мышцы линии 5xFAD.

Патогенез нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера (БА), Паркинсона, деменция с тельцами Леви имеют ряд общих элементов, таких как дегенерация холинергических нейронов базальных ядер переднего мозга или снижение активности сигнального каскада WNT, которое, как считается, может лежать в основе гиперактивации гликогенсинтазы киназы 3-бета (GSK3b) и формирования нейрофибрилярных клубков гиперфосфорилированного тау-белка. В ряде источников показано, что дисфункция wnt каскада наряду с инсулиновой резистентностью, очень часто развивающейся при упомянутых патологиях может приводить к повышенной активности GSK3b и гиперфосфорилированию тау, которое происходит в результате фосфорилирования этого белка по множеству сайтов, что отражается в нарушении его функции, дестабилизации внутриклеточного транспорта, и, как следствие, гибели клеток. Данные литературы последних лет свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия WNT3 может восстановить нейрогенез в гиппокампе мышей 5xFAD (Choi et al., 2018), которые экспрессируют человеческие APP и PSEN1 с пятью мутациями, связанными с БА. Кроме того, гиперэкспрессия WNT3a также была способна восстановить уровни нейрогенеза в зубчатой извилине мышей 3xTgAD, несущих человеческие APP, tau и PSEN1 с AD-связанными мутациями (Adi Shruster et al, 2014). На модели мышей с БА показано, что экзогенная стимуляция WNT стимулирует нейрогенез, что делает WNT каскад привлекательной терапевтической мишенью для активации нейрогенеза на фоне нейродегенеративных заболеваний.

Целью настоящего исследования было выявить возможность коррекции синаптической пластичности у мышей линии 5xFAD с помощью сигнального каскада Wnt. Работа была проведена на самцах мышей линии 5xFAD в возрасте 6-6,5 месяцев.

Исследования провели на 3 группах животных: мыши дикого типа (WT) (n = 9), мыши линии 5xFAD, которым инъецировали конструкцию, несущую WNT3A (n = 11) или контрольную конструкцию (n = 11). Электрофизиологическим экспериментам предшествовала хирургическая операция. Мышам линии 5xFAD стереотаксически под ингаляционной анестезией изофлюраном билатерально вводили вирусную конструкцию в область CA1 гиппокампа по следующим координатам: AP – 2 мм, L и R ± 1,3 мм, H – 1,8 мм. Контрольные животные получали эквивалентные объемы контрольной конструкции. Вирусные конструкции вводили с помощью микроинфузионного насоса (Stoelting Co., США) со скоростью 0,5 мкл/мин. Через 14 дней после инъекции подопытных животных декапитировали и извлекали мозг. Переднюю часть мозга, содержащую медиальную септальную область, и контралатеральный гиппокамп помещали в 4% раствор формальдегида на 2 дня для фиксации, из оставшейся части мозга готовили горизонтальные срезы гиппокампа толщиной 350 мкм с помощью вибратора (Leica Biosystems, Германия) в ледяной искусственной спинномозговой жидкости (ACSF), содержащей (в mM): 126 NaCl, 2.5 KCl, 24 NaHCO<sub>3</sub>, 1.23 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7 MgCl, 23,5 Глюкозы, 0,5 CaCl<sub>2</sub>, 5мМ HEPES, (насыщение 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>). Подготовку срезов, инкубацию, регистрацию вызванных потенциалов (ВПСП) проводили по стандартным методикам. В течение 1 ч после порезки срезы инкубировали при температуре 32°C в насыщенной

кислородом искусственной спинномозговой жидкости (ACSF) (126 NaCl, 2.5 KCl, 24 NaHCO<sub>3</sub>, 1.23 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 MgCl, 13 Глюкозы, и 2 CaCl<sub>2</sub>). Для регистрации ВПСП срезы переносили в специальные камеры объемом 25 мл с постоянным протоком (3–5 мл/мин) ACSF и температурным режимом 31–32°C. ACSF комнатной температуры, которую подавали в камеру, непрерывно перфузировали смесью 95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub> со скоростью 5 мл/мин. ВПСП регистрировали с помощью стеклянного микроэлектрода, заполненного ACSF, со средним сопротивлением 1–5 Мом.

Стимуляцию срезов производили с помощью биполярного электрода (нихромовая проволока, 80 мкм) подведенного к коллатералиям Шаффера. ВПСП регистрировали в ответ на парные импульсы с межстимульным интервалом 50 мс и частотой тестирования 0,033 Гц. Для записи ВПСП использовали интенсивность стимула, вызывающую ВПСП амплитудой 50% от максимума.

Для контроля качества заражения вирусной конструкцией, несущей WNT3a фиксированные контралатеральные гиппокампы мышей резали на вибротоме, делая фронтальные срезы толщиной 50 мкм (по 2 среза от каждого животного). Иммуногистохимическое окрашивание на green fluorescent protein (GFP) проводили по стандартной методике. Изображения получали с помощью микроскопа Leica DM6000B (Leica Biosystems, Германия).

Для оценки достоверности результатов использовали двухфакторный ANOVA-анализ с одним межгрупповым (фактор группы) и одним внутригрупповым (повторные изменения) факторами. При анализе изменений синаптической пластичности у животных дикого типа, мышей линии 5xFAD, оверэкспрессирующих WNT3A или контрольный вирус показали, что амплитуда ДП у животных, получавших инъекции контрольной конструкции стабильно снижена по сравнению с мышами дикого типа и мышами линии 5xFAD с инъекцией WNT3A на протяжении 60 мин после тетанизации ( $F(2,28) = 3.9, p < 0.05$ ; ANOVA-метод; повторные измерения 0-60 мин (рис. 1 и 2)). Кроме того, мы показали статистически значимые различия во времени:  $F(162, 4536) = 21.2, p < 0.0001$  и взаимодействия между факторами  $F(324, 4536) = 2.6, p < 0.0001$ ). При анализе парно-импульсной фасилитации (PPF) были выявлены статистически значимые различия, парное отношение у группы животных дикого типа значимо отличалось от парного отношения мышей линии 5xFAD вне зависимости от того, был ли введен в гиппокамп вирус, оверэкспрессирующий WNT3A или контрольная конструкция ( $F(2, 28) = 3.5, p < 0.05$ ) (рис. 3), показан значимый эффект времени:  $F(162, 4536) = 2.6, p < 0.0001$  и значимое изменения взаимодействия между факторами  $F(324, 4536) = 1.4, p < 0.0001$ ).

На основании данных иммуногистохимического окрашивания срезов мозга, проведенный после завершения всех электрофизиологических экспериментов, мы показали, что инъекции WNT3A вызывали оверэкспрессию вируса в области CA1 гиппокампа.

WNT3A способен оказывать положительный эффект на инициацию ДП в условиях патологических изменений в гиппокампе, связанных с БА, что согласуется с имеющимися в литературе данными (Choi et al., 2018), где продемонстрировано, что оверэкспрессия WNT3 восстановила нейрогенез в гиппокампе мышинной модели AD 5xFAD. Этот положительный эффект не связан с пресинаптическими механизмами. Это позволяет сделать вывод, что активация каскада WNT может быть использована в качестве средства для коррекции состояний, связанных с нарушением синаптической пластичности.

Список литературы:

1. Se Hoon Choi et al. Combined adult neurogenesis and BDNF mimic exercise effects on cognition in an Alzheimer's mouse model//Science 2018 Sep 7;361(6406):eaan8821.
2. Adi Shruster et al. Targeting neurogenesis ameliorates danger assessment in a mouse model of Alzheimer's disease//Behav Brain Res. 2014

# СИНХРОНИЗАЦИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГИППОКАМПА И ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРЕДЪЯВЛЕНИЯ УСЛОВНОГО СТИМУЛА В ОПАСНОМ И БЕЗОПАСНОМ КОНТЕКСТЕ

*Галдобина Д.А.*

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

*e-mail: [darja.darja789@gmail.com](mailto:darja.darja789@gmail.com)*

**Ключевые слова:** целенаправленное поведение, тета-синхронизация, контекст, префронтальная кора, гиппокамп.

Синхронизация на частоте тета-ритма (7-12 Гц) играет ключевую роль в объединении различных структур головного мозга в единую функциональную систему, работа которой является механизмом осуществления целенаправленного поведения [1]. Целенаправленное поведение включает в себя как минимум два компонента: сенсорный компонент (внимание к целевому стимулу) и моторный компонент (двигательная реакция). Рядом авторов было показано, что синхронизация отражает не только подготовку к выполнению моторной реакции, но и осуществление когнитивной работы, связанной с восприятием целевого стимула [3]. Однако остается неизвестным, какое влияние оказывает контекст на формирование значимости стимула, и какие структуры функциональной системы являются ключевыми для выбора оптимального поведения на основе этого процесса [5]. Контекст кодируется когнитивной картой, формирующейся в результате активности гиппокампа, а префронтальная кора отвечает за сложную когнитивную деятельность, в частности выбор конкурирующих стратегий [4,6]. Поэтому нами была выдвинута гипотеза о том, что повышение синхронизации в сети структур гиппокампа (ГПК) и префронтальной коры (ПФК) является механизмом оценки значимости контекста при выполнении условного рефлекса одностороннего избегания.

В эксперименте использовали 4 половозрелых самца крыс линии Wistar, которым предварительно вживили электроды в ГПК и ПФК обоих полушарий. Экспериментальная камера была разделена на “опасный” темный отсек с электрифицированным полом и “безопасный” светлый отсек, разделенных дверкой с датчиком нажатия. Животных обучали совершать реакцию одностороннего избегания аверсивного воздействия (электрический ток, 2мА, максимальная длительность 2 с) при предъявлении звукового стимула (4 с, 8 кГц, 80 дБ) в “опасном” отсеке по схеме описанной ранее [2]. После достижения критерия обученности 90% успешных проб проводили запись электрической активности при предъявлении звука в “опасном” и “безопасном” отсеках. В результате обучения животные совершали реакцию избегания при предъявлении звука только в “опасном” контексте. Для оценки синхронизации на полученных записях выбрали фрагменты, соответствующие 2с фоновой записи и 4с после предъявления звука в обоих отсеках, где определяли мощность тета-ритма в диапазоне (7-12 Гц) и показатель когерентности при помощи построения индивидуальных и средних спектров.

В результате работы было показано, что у всех крыс увеличение синхронизации между ГПК и ПФК сопровождается повышением мощности тета-ритма в обеих структурах при выполнении выученной реакции. При этом данное увеличение более выражено при предъявлении условного стимула в “опасном”, чем в “безопасном” отсеке. Также было отмечено, что при анализе фрагментов длительностью более 1с, в течение которых животные не совершали реакцию избегания при включении звука, наблюдалось повышение когерентности, но не мощности тета-ритма, что свидетельствует о выполнении когнитивной работы по сопоставлению значимости стимула и контекста. Таким образом, синхронизация на частоте тета-ритма между ГПК и ПФК участвует в интеграции этих структур в единую функциональную систему для оценки

опасности обоих контекстов и совершении на основании этого адекватной поведенческой реакции.

Список литературы:

1. Ливанов М.Н. Пространственная организация процессов головного мозга. - М.: Наука, 1972. - 181 с.
2. Серков А.Н., Серкова В.В., Майоров В.И.. Взаимодействие медиальной префронтальной коры, вентрального гиппокампа и базолатеральной миндалины при выполнении условного рефлекса избегания // Журнал высшей нервной деятельности. -2015. - №2. - С. 230-239.
3. Benchenane K., Peyrache A., Khamassi M., Tierney P.L., Giovanni Y., Battaglia F.P., Wiener S.I. Coherent Theta Oscillations and Reorganization of Spike Timing in the Hippocampal-Prefrontal Network upon Learning // Neuron. - 2010. - V. 66. - P.921–936.
4. Cohen J.D., Miller E.K., An integrative theory of prefrontal cortex function//Annual Review of Neuroscience. - 2001. - V. 24. - P. 167–202.
5. Grillon C. Startle reactivity and anxiety disorders: aversive conditioning, context, and neurobiology // Biological Psychiatry. - 2002. - V. 52. - P.958 – 975.
6. O'keefe J., Nadel L. The hippocampus as a cognitive map. Clarendon Press, - 1978. - 570 p.

## ОВЕРЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА WNT3A КАК ВОЗМОЖНЫЙ ПОДХОД К КОМПЕНСАЦИИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА В ГИППОКАМПЕ КРЫС

*Герасимов К.А., Добрякова Ю.В., Корягина А.А., Большаков А.П., Маркевич В.А.*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН  
e-mail: gerasimov.konstant@gmail.com*

**Ключевые слова:** холинергический дефицит, wnt3a, канонический wnt-каскад.

Распространенные нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, некоторые формы болезни Паркинсона, деменция с тельцами Леви объединены общим компонентом патогенеза - дисфункцией базальной холинергической системы головного мозга, что приводит к развитию у пациентов когнитивно-поведенческих нарушений, тяжесть которых зависит от величины поражения холинергических структур. Другим общим компонентом является повышенная активность киназы гликогенсинтазы 3-бета (gsk-3 $\beta$ ). Предполагается, что в условиях патологии gsk-3 $\beta$  активно участвует в формировании нейрофибриллярных клубков гиперфосфорилированного тау-белка, который, согласно ряду исследований, может приводить к гибели клетки. Также известно, что активность gsk-3 $\beta$  может быть снижена при активации канонического wnt-каскада, одним из лигандов которого выступает белок wnt3a. Также активация каскада может быть одним из возможных механизмов компенсации при холинергическом дефиците, поскольку его активации ведет к стабилизации транскрипционного фактора  $\beta$ -катенина, который регулирует экспрессию генов, связанных в том числе с синаптической передачей. Таким образом, цель данного исследования заключается в изучении потенциального защитного эффекта, который может оказывать активация канонического wnt каскада, у животных с холинергическим дефицитом в гиппокампе.

В качестве модельных животных в исследовании использовали самцов линии Вистар (250-300 г.), у которых холинергический дефицит индуцировали путем введения иммунотоксина 192IgG-сапорина (192-SAP) в медиальную септальную область крысы. Эффективность холинергической дегенерации оценивали с помощью иммуногистохимического окрашивания срезов мозга на холинацетилтрансферазу (ХАТ). Гиперактивацию wnt-каскада вызывали оверэкспрессией канонического лиганда wnt3a, обеспеченной внутригиппокампальным введением экспрессирующего вектора на основе аденоассоциированного вируса серотипа 2. Результат активации каскада оценивали по изменению количества белков каскада ( $\beta$ -катенин, фосфо- $\beta$ -катенин, gsk3 $\beta$ , фосфо-gsk3 $\beta$ ) методом вестерн-блот. Потенциальный компенсаторный эффект при холинергическом дефиците в гиппокампе у животных оценивали в трех поведенческих тестах ("Открытое поле", "Y-образный лабиринт", "Сужающаяся дорожка"). Индукция холинергического дефицита с помощью внутрисептальной инъекции IgG-сапорина приводит к нарушениям в функции рабочей памяти и увеличивает число ошибок в тесте на сенсомоторную координацию, а также приводит к снижению активности ацетилхолинэстеразы в гиппокампе. Оверэкспрессия wnt3a в гиппокампе животных с экспериментальным холинергическим дефицитом не оказывает значимого влияния на поведение животных в тестах на рабочую память ("Y-образный лабиринт") и сенсомоторную координацию ("Сужающаяся дорожка"), однако, снижает тревожность в тесте "Открытое поле". Оверэкспрессия wnt3a в гиппокампе животных с экспериментальным холинергическим дефицитом не влияет на уровень белков фосфо- $\beta$ -катенин, gsk3 $\beta$  и фосфо-gsk3 $\beta$ , однако, приводит к снижению уровня белка  $\beta$ -катенина.

Полученные данные говорят о том, что гиперэкспрессия *wnt3a* в гиппокампе животных с холинергическим дефицитом модулирует внутриклеточные сигнальные пути и некоторые формы поведения, однако, не оказывает значимого защитного эффекта.

## ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ФОРМИРОВАНИЯ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ПОЛЕЙ ЗРЕНИЯ ВО ВРЕМЯ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

*Годовалова О.С., Прощина А.Е., Савельев С.В.*

*Научно-исследовательский институт морфологии человека им. ак. А.П. Авцына ФГБНУ  
«РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского» Москва, Россия  
e-mail: [godovalova.brain@gmail.com](mailto:godovalova.brain@gmail.com)*

**Ключевые слова:** шпорная борозда, теменно-затылочная борозда, зрительные поля, пренатальное развитие человека.

Мозг взрослого человека отличается от мозга плода. Во время развития в мозге существуют различные временные структуры. Например, для пренатального кортикогенеза характерно наличие транзиторных зон. В дальнейшем зрелое белое и серое вещество головного мозга замещают эти временные зоны. Во время пренатального развития происходят также изменения и модификации борозд и извилин коры головного мозга человека. Первичные борозды являются временными, появляясь и затем исчезая в процессе развития мозга, и, в конечном итоге, заменяются вторичными (постоянными) бороздами.

Целью работы было изучить формирование и развитие первичных (временных) и вторичных (постоянных) борозд затылочной доли мозга.

24 Исследование проводилось на материале уникальной коллекции лаборатории развития нервной системы НИИМЧ им. ак. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского». Работа по созданию коллекции ведется в соответствии с российским законодательством и принципами Хельсинской декларации. В данном исследовании проанализировано в общей сложности 53 аутопсийных образца головного мозга (106 полушарий) плодов в возрасте от двенадцати недель гестационного развития (гн) до рождения. Частично набор данных этого исследования предоставлен на специальном веб-сайте проекта по созданию Атласа развития человеческого мозга <https://brainmorphology.science>. Часть собранных образцов также находится в открытом доступе на веб-сайте лаборатории развития нервной системы <https://brainmicroscopy.com/collection/homo/brain-development>.

Иммуногистохимическое исследование с антителами к рилину (Chemicon), Ca<sup>2+</sup>-связывающему белку S100 (Sygma) и нейронспецифическому beta III тубулину (Abcam), NeuN (Chemicon) было проведено на срезах головного мозга 10 плодов человека на различных стадиях развития, 13 недоношенных и 2 доношенных новорожденных. Все препараты анализировали с помощью светового микроскопа (DM 2500; Leica Microsystems, Вецлар, Германия), оснащенного цифровой камерой (Ломо, Санкт-Петербург, Россия) и программным обеспечением mcA-View 7.1.1.2 (Ломо, Санкт-Петербург, Россия). Измерения проводились на микрофотографиях препаратов. Для оценки интенсивности иммуногистохимической реакции в области Cas и Pos был рассчитан коэффициент иммунореактивности с использованием программного обеспечения Image J (версия 1.43). Статистический анализ проводился в программе Statistica 10 (Statsoft Inc., Талса, США) с использованием критерия Фишера, теста Краскела-Уоллиса с последующим множественным сравнением по среднему рангу и критерия Уилкоксона для парных данных.



Первичные шпорная (*sulcus calcarinus*, Cas) и теменно-затылочная борозды (*sulcus parietooccipitalis*, Pos) выявлены уже на 12-й неделе гн. Pos временно исчезает на 18-20 гн, в то время как Cas выравнивается на 23-25 неделе.

При помощи иммуногистохимического маркирования выявлена гетерогенность в формировании первичных и вторичных полей зрения. Показано, что первичное поле зрения 17, связанное с шпорной бороздой, развивается более интенсивно по сравнению с областью теменно-затылочной борозды, которая содержит закладки вторичных полей зрения 18 и 19. Функциональная дифференциация первичного поля зрения начинается во время вставания таламических афферентов. Этот процесс совпадает с временным исчезновением шпорной борозды, что указывает на совпадающее по времени развитие функциональной специализации и структурных изменений. Интересно, что более раннее временное сглаживание Pos по сравнению с Cas не приводит к более раннему формированию связанного с ней вторичного поля 18 зрения. Эти данные могут свидетельствовать о том, что процессы увеличения ширины полушария за счет нейро- и глиогенеза и процессы цитоархитектонического созревания коры протекают параллельно. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике для более точного определения возраста человеческих плодов.

***Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-15-00172.***

# ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕДЕНИЯ DANIO RERIO В ТЕСТЕ СОЦИАЛЬНОЙ ИЗОЛЯЦИИ

*Гольц В.А., Лебедев А.А., Шабанов П.Д.*

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

*Email: [aalebedev-iem@rambler.ru](mailto:aalebedev-iem@rambler.ru)*

**Ключевые слова:** Danio rerio; кисспептины костистых рыб; KS6; KS10, окситоцин.

Исследование противотревожного действия кисспептинов млекопитающих и кисспептинов костистых рыб у *Danio rerio*, подвергшихся социальной изоляции.

Социальное взаимодействие между особями является основной составляющей для развития индивида в сообществе. У животных социальное поведение связано с выживанием в естественной среде обитания. Зачастую, социальная изоляция, которая относится к отклонению в социальном поведении, приводит к развитию психических заболеваний. Чтобы на ранних стадиях диагностировать отклонения и правильно подбирать как нынешние, так и исследуемые препараты, проводят поведенческие тесты. Ранее тесты на социальное поведение проводились на крысах, однако, в практических целях в качестве экспериментальных моделей стали часто использовать *Danio rerio*, в том числе в тестах на социальное поведение. В недавних исследованиях было показано, что социальная изоляция на ранних этапах развития еще на стадии личинок приводит к избеганию сородичей у мальков *Danio*. Также в недавних исследованиях показано, что социальная изоляция приводит к повышению уровня тревожности при социальном внутривидовом взаимодействии, что характерно как для крыс, так и для человека. В связи с этим рыбы *Danio* стали актуальным объектом для проведения поведенческих тестов, в том числе при изучении социального поведения. Кисспептин 1 костистых рыб снижает тревожно-фобические реакции, оказывая действие на серотонинергическую систему рыбок *Danio*. Так как ген кисспептина (*kiss1*) костистых рыб является также консервативным ортологом гена кисспептина (*KISS1 / Kiss1*) млекопитающих, можно предположить, что нейропептиды будут обладать сходным действием. В настоящем исследовании изучали возможное противотревожное действие кисспептинов костистых рыб (*Kiss 1* и *Kiss 2*) и аналоги кисспептина *Kiss 1* млекопитающих *Cloud Clone* (США) *KS6* и *KS 10*.

Каждую рыбку помещали на двое суток в отдельную ёмкость с водой. Спустя двое суток тестируемое животное помещали в мерный стакан с растворённым фармакологическим веществом или водой. Тест социального поведения проводили в 2 этапа. Сначала животное помещалось в аквариум на 15 минут для акклиматизации, затем в аквариум со стеклянной перегородкой, в котором плавала группа сородичей. *Danio rerio* мог приближаться к стае или отплывать от собратьев. Тестирование длилось 10 минут. Препараты растворяли в дозировке 0, 1 мг/л. В качестве препарата сравнения использовали окситоцин в дозировке 3,8 мкл.

В результате проведённого исследования было выявлено, что латентное время снижалось после действия кисспептинов в сравнении с изолянтами, в то время как контрольные рыбы демонстрировали коммуникативное поведение. В сравнении с изолянтами после действия *KS10* латентное время снижалось в 5 раз, в сравнении с контролем латентное время снижалось в 1,4 раза. На фоне действия *KS6* в сравнении с изолянтами латентное время снижалось в 7 раз, в сравнении с контролем время снижалось в 2 раза. На фоне действия кисспептинов костистых рыб после введения *Kiss1* латентное время в сравнении с изолянтами снижалось в 3 раза, в сравнении с контролем увеличивалось в 1 раз. После введения *Kiss2* латентное время в сравнении с изолянтами снижалось в 2,5 раза, в сравнении с контролем увеличивалось в 1,5

раза. В сравнении с контролем после окситоцина латентное время снижалось в 1 раз, в сравнении с изолянтами в 3,8 раза. На фоне действия KS10 в сравнении с изолянтами количество подплывов к стае увеличивалось в 1,8 раза, в сравнении с контролем в 0,8 раз. После введения KS6 в сравнении с изолянтами количество подплывов к стае увеличилось в 1,5 раз, в сравнении с контролем в 1,1 раза. На фоне действия кисспептинов костистых рыб у Kiss1 в сравнении с контролем количество подплывов уменьшилось в 1 раз, в сравнении с изолянтами увеличивалось в 1,3 раза. У Kiss2 в сравнении с контролем количество подплывов к стае уменьшилось в 1,1 раза, но в сравнении с изолянтами увеличивалось в 1,2 раза. В сравнении с контролем окситоцин повышал количество подплывов в 1 раз, в сравнении с изолянтами в 1,6 раза.

Таким образом наилучший результат был получен на фоне действия аналогов кисспептина, в частности, KS10, которые по действию оказались близки к окситоцину, однако кисспептины млекопитающих также оказывали противотревожный эффект после изоляции.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ АНАЛОГОВ КИССПЕПТИНА НА ПОВЕДЕНИЕ DANIO RERIO

*Лебедев А.А., Гольц В.А., Шабанов П.Д.*

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

*Email: [aalebedev-iem@rambler.ru](mailto:aalebedev-iem@rambler.ru)*

**Ключевые слова:** Danio rerio, антидепрессанты, аналоги кисспептина, фризинг, тревожно-фобические реакции.

Исследовать возможное анксиолитическое действие аналогов кисспептина Kiss1 млекопитающих у Danio rerio в сравнении с антидепрессантами серотонинового типа действия. Использовали тест новизны: рыбу помещали сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или H<sub>2</sub>O), затем в предстартовый аквариум с водой на 5 минут и далее в просмотрный аквариум на 6 минут, где автоматически регистрировали траекторию движения, длину пути, число перемещений в верхнюю часть аквариума, время пребывания в нижней части аквариума, число и время паттерна «фризинг».

В ответ на новизну рыбы реагируют погружением на дно, увеличением фризинга и снижением числа перемещений в верхнюю половину аквариума. На фоне антидепрессантов кломипрамина, пароксетина или тразодона (0,5 мг – 1 мг на 1000 мл воды) рыбы находились не только в нижней, но и в верхней части просмотрного аквариума. Средняя длина пути существенно не изменялась. Время пребывания в нижней части аквариума снижалось более чем в 2 раза по сравнению с контрольной группой животных и проявляло дозозависимый эффект. Число перемещений в верхнюю часть аквариума за опыт существенно увеличивалось. Аналоги кисспептина млекопитающих «Cloud Clone» (США) в дозе 0,01–1 мг на 1 л воды вызывали сходную картину поведения у рыб в ответ на новизну. В то же время эффекты аналогов кисспептина оказались ниже, чем у антидепрессантов. Наиболее эффективная доза для действия изученных аналогов кисспептина соответствовала 0,1 мг на 1 л воды.

Таким образом, аналоги кисспептина Kiss1 млекопитающих снижают тревожно-фобические реакции на новизну у Danio rerio. Данные об однонаправленных эффектах аналогов кисспептина млекопитающих и антидепрессантов серотонинового типа действия подтверждают потенциальную роль Kiss1 в модуляции серотонин-зависимого поведения у Danio rerio. Полученные данные подтверждают гипотезу, что кисспептин может участвовать в регуляции тревожно-фобических состояний, по-видимому, для поддержания эмоциональных аспектов репродуктивного поведения, таких как половая мотивация и возбуждение.

# ИССЛЕДОВАНИЕ АНКСИОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНАЛОГОВ КИССПЕПТИНА МЛЕКОПИТАЮЩИХ И КИССПЕПТИНА КОСТИСТЫХ РЫБ НА ПОВЕДЕНИЕ DANIO RERIO

*Гольц В.А., Лебедев А.А., Шабанов П.Д.*

*Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

*Email: [aalebedev-iem@rambler.ru](mailto:aalebedev-iem@rambler.ru)*

**Ключевые слова:** Danio rerio, Kiss1, Kiss2, KS6, KS10.

Изучить действие аналогов кисспептина млекопитающих и Kiss 10 на тревожно-фобические состояния в тесте новизны у Danio rerio.

Для экспериментов оценки новизны применяли стандартный просмотровый аквариум, который используется для изучения тревожно-фобических реакций у Danio rerio. Рыбка помещалась сначала в мерный стакан с растворенным фармакологическим веществом (или водой) на 5 минут, затем в предстартовый аквариум с водой на 5 минут и далее в просмотровый аквариум на 6 минут, где регистрировали двигательную активность за опыт (длина трека рыбки), число переходов в верхнюю и нижнюю половины аквариума и время нахождения в них. Автоматически регистрировали число и время паттернов «фризинг» (обездвиживание или «примерзание») за опыт, которые обычно наблюдаются при стрессе новизны и отражают уровень тревожности животного.

В процессе проведения экспериментов были установлены типичные поведенческие реакции на новизну (то есть на помещение животного в просмотровый аквариум). Как правило, рыба находилась в это время в нижней части просмотрового аквариума и совершала небольшие перемещения вдоль него). На фоне действия аналогов кисспептина Kiss1 мы получили следующие данные: В сравнении с контролем у KS 4 в дозе 0,1 мг/л отмечались снижение числа фризингов в 1,4 раза, времени фризинга в 1,4 раза, длины траектории в 1,4 раза. Число переходов в верхнюю часть аквариума увеличивалось в 1,5 раза. В дозе 0,01 мг/л уменьшались число фризингов в 1,5 раза, время фризинга в 1,5 раза, длина траектории в 3 раза. У KS 5 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число фризингов в 1,6 раза, время фризинга в 1,6 раза, длина траектории в 1,17 раза. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума в 1,5 раза. В дозе 0,01 мг/л уменьшались число фризингов в 3 раза, время фризинга в 2,8 раза, длина траектории в 2,8 раза. У KS 6 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число фризингов в 2,7 раза, время фризинга в 2 раза, длина траектории в 2,5 раза. Увеличивалось число переходов в верхнюю часть аквариума в 2,5 раза. В дозе 0,01 мг/мл снижались число фризингов в 2,6 раза, время фризинга в 2,6 раза, длина траектории в 1,7 раза. У KS 7 в дозе 0,1 мг/л уменьшались число фризингов в 1,7 раза, время фризинга в 1,4 раза, длина траектории в 1,3 раза. Увеличивалось число перемещений в верхнюю часть аквариума в 1,6 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризингов в 1,7 раза, время фризинга в 1,4 раза, длина траектории в 1,6 раза. У KS8 в дозе 0,1 мг/л снижались число фризингов в 1,6 раза, время фризинга в 1,7 раза, длина траектории в 1,6 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризингов в 2,3 раза, время фризинга в 2,2 раза, длина траектории в 1,8 раза. У KS9 в дозе 0,1 мг/л снижались число фризингов в 2 раза, время фризинга в 2 раза, длина траектории в 1,2 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризингов в 1,5 раза, время фризинга в 1,5 раза, длина траектории в 1,6 раза. У Kiss10 в дозе 0,1 мг/л наблюдали снижение числа фризингов в 1,6 раза, время фризинга в 1,5 раза, длины траектории в 1,4 раза. Наблюдалось увеличение переходов в верхнюю часть аквариума в 2,7 раза. В дозе 0,01 мг/л снижались число фризингов в 1,7 раза, время фризинга в 1,6 раза, длина траектории в 1,3 раза. Наблюдалось увеличение числа траектории в 1,3 раза. Аналоги кисспептина млекопитающих «Cloud Clone»

(США) в дозе 0,01–1 мг на 1 л воды вызывали сходную картину поведения у рыб в ответ на новизну. В то же время мы не обнаружили особой разницы в сравнении с феназепамом (0,5-1 мг на 1000 мл воды).

Резюмируя полученные показатели, мы пришли к выводу, что аналоги кисспептина Kiss1 млекопитающих снижают тревожно-фобические реакции на новизну у *Danio rerio*. Судя по всему, кисспептин участвует не только в модуляции 5-НТ-зависимого поведения у *Danio rerio*, но и ГАМК-эргической системы, как и транквилизаторы бензодиазепинового ряда. Наиболее показательные результаты продемонстрировал KS6 в дозе 0,1 мг/л.

## ОСОБЕННОСТИ ОТРАЖЕНИЯ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ В ХАРАКТЕРИСТИКАХ РЕЧИ ДЕТЕЙ 5-7 ЛЕТ

*Граве П.И., Николаев А.С.*

*Санкт-Петербургский государственный университет*

*email: st087500@student.spbu.ru*

**Ключевые слова:** детская речь, эмоциональное состояние ребенка, инструментальный анализ, перцептивный анализ.

Изучению особенностей эмоциональной речи детей и взрослых посвящены многочисленные исследования на материале разных языков. Ряд исследований посвящён изучению отражения эмоциональных состояний детей в характеристиках голоса и поведения.

Целью данной работы является изучение особенностей отражения эмоционального состояния в характеристиках речи детей 5–7 лет. В работе использован методический подход оценки эмоциональной сферы детей CEDM, разработанной в Группе по изучению детской речи СПбГУ в рамках международного проекта РНФ. Подход включал тесты, задания и игровые ситуации, направленные на отражение детьми в голосе, речи и мимике разных эмоциональных состояний и распознавание эмоциональных состояний других.

В исследовании приняли участие 13 детей (5 мальчиков, 8 девочек).

Перед исследованием определяли психофизиологические характеристики детей: пороги слуха (методом тональной аудиометрии), ведущее полушарие по речи (дихотическое тестирование), фонематический слух. Проведён анализ текстов диалогов детей с экспериментатором, в ходе которого определяли сложность ответных реплик детей и частоту встречаемости разных частей речи.

31 С целью изучения возможности распознавания взрослыми эмоционального состояния детей по речи проведён перцептивный эксперимент, в котором приняли участие 20 взрослых носителей русского языка (аудиторов). Для перцептивного эксперимента создана тестовая последовательность (аудиотест), содержащая фразы детей, произнесённые в разных эмоциональных состояниях. Перед аудиторами стояла задача на основе слухового восприятия определить эмоциональное состояние детей. Инструментальный анализ речевого материала, включённого в аудиотест, проводили в звуковом редакторе «Cool Edit Pro 2.0». Анализ включал определение средних значений частоты основного тона (ЧОТ) фраз детей, максимальных и минимальных значений ЧОТ, вариативности ЧОТ.

В работе показаны особенности ответных реплик детей, отражающих разные эмоциональные состояния. Фразы детей, произнесённые в разных эмоциональных состояниях, различаются по значениям ЧОТ. Реплики детей, отражающие состояние радости, имеют более высокие средние и максимальные значения ЧОТ, диапазон ЧОТ по сравнению с репликами, отражающими нейтральное состояние.

Показаны особенности распознавания взрослыми эмоционального состояния детей по их речевому материалу в перцептивном эксперименте. Лучше всего аудиторы определяли состояния радости, печали и нейтральное, менее успешно аудиторы распознавали состояние гнева. Проведен анализ физиологических показателей детей, показатели фонематического слуха и пороги слуха детей находятся в пределах возрастной нормы. Показана корреляция (Спирмен,  $p < 0,05$ ) между порогами слуха, ведущим полушарием по речи и средними значениями частоты основного тона.

Данная работа проводится в рамках разработки междисциплинарного подхода к диагностике и коррекции нарушений эмоциональной сферы детей. Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы при изучении отражения эмоций детьми с атипичным развитием.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (№ 22-45-02007).*

## ВЛИЯНИЕ АУДИОГЕННОГО КИНДЛИНГА НА ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ АСТРОЦИТОВ ГИППОКАМПА У КРЫС ЛИНИИ КРУШИНСКОГО-МОЛОДКИНОЙ

*Григорьева Ю.С.*

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

*\*e-mail: [y.s.belyaeva@gmail.com](mailto:y.s.belyaeva@gmail.com)*

**Ключевые слова:** височная эпилепсия, астроциты, реактивный астроглиоз, крысы линии Крушинского-Молодкиной.

Эпилепсия — одно из наиболее частых неврологических расстройств, которое нередко сопровождается склерозом гиппокампа. В очагах склероза выявляются такие признаки, как гибель нейронов, разрастание кровеносных сосудов, реорганизация синапсов, а также реактивный астроглиоз — значительные изменения морфологии и функций астроцитов. Для реактивных астроцитов характерно увеличение размера, усиленное ветвление отростков, повышение экспрессии глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) и продукции провоспалительных цитокинов, что приводит к гибели нейронов. Сходные изменения были выявлены также при моделировании височной эпилепсии у животных.

В наших экспериментах в качестве объекта исследования были выбраны крысы линии Крушинского-Молодкиной (КМ), генетически предрасположенные к аудиогенной эпилепсии, которые являются адекватной моделью височной эпилепсии у человека (Kulikov et al., 2022). Для выяснения эффектов эпилептогенеза на уровни ключевых функциональных белков астроцитов гиппокампа, таких как GFAP, ALDH1L1, AQP4, EAAT1/2 и GABAT3, мы проанализировали с помощью Вестерн блот анализа астроциты гиппокампа наивных и эпилептизированных крыс КМ. Нами были выбраны протоколы 7-, 14- и 23-дневного аудиогенного киндлинга.

Анализ функционального состояния астроцитов гиппокампа крыс линии КМ показал, что после 7-дневного аудиогенного киндлинга не изменяется уровень GFAP белка, тогда как при 14-дневном уровне GFAP значительно возрастает у эпилептизированных крыс линии КМ по сравнению с «наивными». При этом не было изменений в уровне белка ALDH1 L1 между киндлингованными крысами КМ и контрольной группой после 7- и 14-дневного киндлинга. На основании этих данных можно предположить, что после 14 дней судорожных припадков включаются процессы реактивного астроглиоза. В то же время, после 23-дневного аудиогенного киндлинга мы наблюдали отсутствие изменений в экспрессии белка GFAP, но при этом наблюдалось значимое снижение по таким ключевым белкам, как ALDH1L1, AQP4, GAD-T3, EAAT1 и 2. Полученные данные свидетельствуют о перестройке функционального статуса астроцитов при эпилептогенезе и подтверждают полученные ранее данные о развитии эксайтотоксичности при длительном аудиогенном киндлинге.

***Работа поддержана грантом РФФ №23-24-00342.***



## НЗ - АУТОРЕЦЕПТОРЫ ГИСТАМИНА ИЗМЕНЕНЫ В СЛУХОВОЙ КОРЕ МОЗГА КРЫС С АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ

*Далинина В.Д.<sup>1</sup>, Бирюкова Л.М.<sup>2</sup>, Мидзяновская И.С.<sup>2</sup>*

*1- РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

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

[vdalinina@gmail.com](mailto:vdalinina@gmail.com)

**Ключевые слова:** Аудиогенная эпилепсия, гистамин, слуховая кора.

Моделирование человеческих патологий на животных позволяет исследователям изучить механизмы их возникновения. Помимо этого данные, полученные благодаря животным моделям, позволяют экспериментально искать точки приложения терапевтических воздействий, испытать активность и безопасность веществ-кандидатов.

Различные животные модели эпилепсии используются в первую очередь для испытания новых антиконвульсантов. Эпилептические припадки могут быть как спонтанными, так и индуцированными с помощью физиологически активных веществ, посредством электрической стимуляции структур ЦНС, либо предъявлением специфической стимуляции в случае рефлекторных эпилепсий. Помимо этого довольно распространенными являются генетические модели, полученные с помощью разведения инбредных или нок-аутных линий. К крысиным полигенетическим моделям эпилепсии относятся инбредные линии Крушинского-Молодкиной (модель аудиогенной эпилепсии) и линии WAG/Rij (модель абсансной эпилепсии), которые были использованы в данном исследовании. Мы изучали влияние генетически обусловленной эпилепсии конвульсивного и/или неконвульсивного типов на региональную плотность связывания НЗ рецепторов гистамина.

Гистамин в ЦНС - это биогенный амин, регулирующий цикл сна и бодрствования, пищевое поведение, локомоцию и терморегуляцию; одна из важнейших ролей гистамина – модуляция работы других медиаторных и модуляторных систем мозга. Гистаминергические нейроны мозга находятся в туберомамиллярном ядре гипоталамуса, откуда нейроны посылают свои проекции не только в рамках головного мозга, но также в спинной мозг и на сетчатку. Основные рецепторы гистаминергической системы головного мозга - HRH1 и HRH3. HRH3 рецепторы являются как ауторецепторами, так и гетерорецепторами. Находясь на гистаминергических нейронах, HRH3 рецепторы ингибируют выделение гистамина при активации. Помимо это активация HRH3 рецепторов может модулировать выделение других нейроактивных веществ.

Автордиография на серии коронарных срезов мозга крыс с генетически обусловленной аудиогенной и-или абсансной эпилепсиями (линий WAG/Rij, As-WAG/Rij, KM) и контрольных крыс Вистар. 14-микронные коронарные срезы мозга крыс инкубировались с НЗ-меченым тиоперамидом, впоследствии выдерживались на третий-чувствительной пленке. Оптическая цифровая денситометрия проводилась с помощью программы ImageJ; сравнение региональных значений плотностей связывания лиганда с НЗ рецепторами гистамина проводилось с помощью дисперсионного анализа (GLM ANOVA).

В нашем исследовании мы обнаружили регион-зависимое изменение плотности связывания с HRH3. А именно, участки первичной слуховой коры и дорсальной области вторичной слуховой коры оказались затронуты изменениями в гистаминергической системе мозга. Крысы, перенесшие аудиогенные эпилептические припадки имели большую плотность HRH3 в данных регионах коры ( $p=0,038$  для первичной слуховой коры,  $p= 0,020$  для дорсальной области вторичной слуховой коры). Такой эффект не был обнаружен в соседних областях (вентральной области вторичной слуховой коры и экторинальной коре).

Можно предположить, что в данном случае HRH3 рецепторы опосредуют ГАМК-ергическое торможение, так как именно его роль первичная для снижения порогов судорожной готовности. Вместе с тем, нельзя исключить и собственную антиконвульсивную активность гистамина мозга [1, 2,3].

Наши результаты показывают специфический паттерн активации гистаминергической системы мозга в отделах слуховой коры крыс с генетической аудиогенной эпилепсией. На данный момент существует два популярных метода картирования слуховой коры: иммуногистохимический и микроэлектродный. Первый используется в атласе “Мозг крысы в стереотаксических координатах” Дж. Паксиноса и Ч. Ватсона [4]. Благодаря иммунореактивности к кальбиндину и связыванию с моноклональными антителами SMI-32 авторам удалось выявить три области слуховой коры: первичную слуховую кору (A1), вентральную слуховую кору (AuV) и дорсальную слуховую кору (AuD). Можно предположить, что обнаруженный паттерн повышенной плотности связывания H3 рецепторов гистамина отражает сниженный порог возбудимости первичной слуховой коры мозга крыс с генетической аудиогенной эпилепсией. Дальнейшие эксперименты могут прояснить терапевтический потенциал локального применения антигистаминных препаратов в качестве возможных антиконвульсантов.

#### Список литературы:

1. Yang L, Wang Y, Chen Z. Central histaminergic signalling, neural excitability and epilepsy. *Br J Pharmacol.* 2022 Jan;179(1):3-22. doi: 10.1111/bph.15692. Epub 2021 Nov 9. PMID: 34599508.
2. Svob Strac D, Pivac N, Smolders IJ, Fogel WA, De Deurwaerdere P, Di Giovanni G. Monoaminergic Mechanisms in Epilepsy May Offer Innovative Therapeutic Opportunity for Monoaminergic Multi-Target Drugs. *Front Neurosci.* 2016 Nov 10;10:492. doi: 10.3389/fnins.2016.00492. PMID: 27891070; PMCID: PMC5102907.
3. Haas HL, Sergeeva OA, Selbach O. Histamine in the nervous system. *Physiol Rev.* 2008 Jul;88(3):1183-241. doi: 10.1152/physrev.00043.2007. PMID: 18626069.
4. Paxinos, George & Watson, Charles. (2007). *The Rat Brain Stereotaxic Coordinates.* 10.1016/B978-0-12-547620-1.50006-0.

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ФАКТОРА OSA/ARID1B В НЕЙРОНАЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ДРОЗОФИЛЫ

Деев Р.В.<sup>1</sup>, Чмыхало В.К.<sup>1</sup>, Токарев А.Т.<sup>1</sup>, Лебедева Л.А.<sup>1</sup>, Шидловский Ю.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Кафедра биологии и общей генетики Сеченовского Университета, Москва, Россия

e-mail: rde3v@yandex.ru

**Ключевые слова:** нейрогенез, эпигенетика, хроматин, дрозофила, нейрон.

Комплекс ремоделирования хроматина SWI/SNF играет ключевую роль в формировании нервной системы, поддерживает самообновление и дифференцировку нейрональных стволовых клеток, способствует формированию макроструктур головного мозга. Ген *ARID1B* кодирует белок BAF250b массой 236кДа, субъединицу комплекса SWI/SNF. Этот белок содержит ARID домен, обеспечивающий связывание комплекса SWI/SNF с ДНК. Гетерозиготные мутации *ARID1B* у человека - одна из самых частых причин развития внесиндромной умственной отсталости, заболеваний аутистического спектра, недоразвития мозолистого тела, синдрома Коффина-Сириса [1]. В экспериментах на мышах было показано, что *ARID1B* способствует формированию мозолистого тела, стимулирует рост, созревание и ветвление дендритов нейронов коры головного мозга, участвует в формировании тормозных ГАМК-эргических интернейронов коры, опосредует выход из плюрипотентности нейрональных стволовых клеток [1].

35  
Задачей нашего исследования является разработка модельной системы синдрома Коффина-Сириса, связанного с недостаточностью *ARID1B*. В качестве модельного объекта выбраны плодовые мухи *Drosophila melanogaster*. У дрозофилы имеется высококонсервативный гомолог фактора *ARID1B* - фактор *Osa*. Использование *D. melanogaster* в качестве модельной системы имеет ряд преимуществ. Дрозофила - это хорошо изученный, недорогой модельный объект, для которого разработаны подходы для модификации генов. На модели *D. melanogaster* показано участие *Osa* в поддержании выживания при старении мухи аксонов грибовидного тела - специфической структуре мозга мухи, участвующей в формировании долговременной памяти [2].

Для снижения уровня фактора *Osa* в нейронах мозга мух были использованы два подхода: нокдаун РНК-интерференцией и ауксин-зависимая деградация белка *Osa*. При нокдауне с помощью РНК-интерференции мы использовали линию мух ( $y[1]v[1];P\{y[+t7.7]v[+t1.8]=TRiP.JF01207\}attP2$ ), экспрессирующую дцРНК, комплементарную мРНК гена *osa*. Экспрессию дцРНК индуцировали в клетках Кеньона грибовидных тел с помощью системы GAL4/UAS. Проверку эффективности нокдауна осуществляли с помощью Gal4-драйвера, экспрессирующегося в слюнных железах личинки, и детекцией иммуноблоттингом белка *Osa* на стадии личинки. Иммуноокрашивание мозга взрослых мух показало снижение уровня фактора *Osa* в клетках Кеньона. Оценка морфологических изменений аксонов грибовидного тела, проведенная с помощью иммуноокрашивания антителами к Fascilin 2, не выявила существенных изменений.

Система ауксин-зависимой деградации белка позволяет быстро и контролируемо осуществить деградацию белка *Osa*, воспроизводить истощение белка *Osa* на отдельных стадиях развития *D. melanogaster*, исследовать участие белка *Osa* в формировании молекулярных следов памяти. Для проведения ауксин-зависимой деградации белка *Osa* вблизи С-конца гена были встроены последовательности домена miniAID и маркерного эпитопа FLAG-V5. Для этого использовали

систему редактирования генома CRISPR/Cas9, с помощью биоинформатических инструментов выбрали место для встройки перед стоп-кодоном в кодирующей области гена *osa*. MiniAID-последовательность кодирует домен, который при взаимодействии с ауксином и протеином TIR1 через систему E3-убиквитин-лигазы позволяет разрушить белок Osa. Наличие встройки проверяли секвенированием последовательности гена *osa* полученной линии мух. Иммунопреципитация эмбрионального ядерного экстракта показала, что модифицированный белок Osa находится в составе комплекса BAP и имеет ожидаемую массу. Chip-qPCR анализ с антителами к Osa подтвердил функциональную сохранность мутантного фактора Osa в составе комплекса BAP, связывание с сайтами-мишенями ДНК. Для проведения ауксин-зависимой деградации Osa у взрослых мух использовали бинарную систему индукции GAL4/UAS. Нейрон-специфическое истощение фактора Osa проводили с использованием elav-драйвера, который специфически активен в мозге. Методом иммуноблота мы выявили снижение уровня белка Osa в мозге при индукции деградации Osa ауксином. Иммуноокрашивание мозга *D. melanogaster* в этой линии продемонстрировало снижение уровня фактора Osa. Таким образом, нами получены и верифицированы рядом методов две системы для инактивации Osa в мозге *D. melanogaster*. В дальнейшем мы планируем проведение Chip-seq, RNA-seq экспериментов и оценки изменения поведения мух при деградации белка Osa на разных стадиях жизни мух.

***Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 20-54-7803.***

Источники и литература:

1. Moffat J. J. et al. The role of ARID1B, a BAF chromatin remodeling complex subunit, in neural development and behavior //Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2019. – Т. 89. – С. 30-38.
2. Chubak, M. C., Nixon, K. C. J., Stone, M. H., Raun, N., Rice, S. L., Sarikahya, M., Jones, S. G., Lyons, T. A., Jakub, T. E., Mainland, R. L. M., Knip, M. J., Edwards, T. N., and Kramer, J. M. (2019) Individual components of the SWI/SNF chromatin remodelling complex have distinct roles in memory neurons of the *Drosophila* mushroom body, Disease Models & Mechanisms, 12, dmm037325, doi: 10.1242/dmm.037325.

## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА В РАЗВИТИИ РЕАКЦИИ НА ОСТРЫЙ СТРЕСС У КРЫС

*Дерябина А.К. \*, Добрякова Ю.В., Большаков А.П.*

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

*\*e-mail: newfanya@mail.ru*

**Ключевые слова:** Ацетилхолин, вынужденное плавание, стресс-реакция, гиппокамп.

В связи с появлением все новых клинических и экспериментальных данных, указывающих на вовлеченность стресса в патогенез целого ряда заболеваний, таких как депрессия, шизофрения, посттравматическое стрессовое расстройство и т.д., данная тема не теряет актуальности в современном мире [1]. Воздействие на организм стрессовых факторов запускает множество различных сигнальных систем, из которых наиболее хорошо описанной является гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось. Помимо гипоталамуса и гипофиза активируются многие другие отделы мозга, включая гиппокамп, где под воздействием стресса меняется функционирование гиппокампальной нейрональной сети и происходит запуск долговременных процессов, включая изменения в экспрессии генов. Считается, что запуск экспрессии генов в различных клетках является результатом комбинаторного действия определенных медиаторных систем. Так, было показано, что экспрессия ряда ранних генов после стресса зависит от глюкокортикоидных рецепторов, а также адренорецепторов, явно указывая на роль этих сигнальных систем в развитии долговременных эффектов после стресса.

В последние годы все больше интереса у исследователей вызывает вовлеченность в реакцию на стрессовые события холинергической системы мозга и роль ацетилхолина (АХ) как в реализации адаптивного ответа на стресс, так и его возможное участие в развитии упомянутых патологий [2]. Хорошо известная роль АХ как нейромедиатора, опосредующего процессы внимания и обучения, дополняется данными о его повышенном содержании в мозге человека и животных во время острого стресса и депрессивных эпизодов, а также повышенной тревожностью и стресс-реактивностью при блокаде ацетилхолинэстеразы (АХЭ) – фермента, расщепляющего АХ [3].

Для изучения вклада холинергической системы мозга в реакцию на стресс мы внутрибрюшинно вводили экспериментальным животным скополамин, который является неселективным антагонистом мускариновых рецепторов ацетилхолина, в дозе 2 мг/кг, после чего подвергали животных острому стрессу вынужденного плавания и сравнивали экспрессию ряда ранних генов, ассоциированных со стрессом, в разных группах.

Эксперимент провели на самцах крыс линии Wistar (n = 31), которых разделили на 4 группы по 7–8 особей в каждой: (1) контроль; (2) плавание; (3) скополамин; (4) скополамин + плавание. В качестве модели острого стресса мы использовали вынужденное плавание в течение 15 мин. Забой животных, сбор крови и дорсального (ДГ) и вентрального гиппокампа (ВГ) производили через 30 мин. после окончания плавания. Уровень экспрессии ранних генов Arg, Ier-2, EGR-1, c-Fos, Npas-4 и SGK-1 оценивали методом ПЦР “в реальном времени”. Образцы правых полушарий фиксировали в формальдегиде для последующего иммуногистохимического окрашивания на egr-1 и c-fos для подтверждения результатов ПЦР.

Вынужденное плавание приводило к увеличению экспрессии большинства ранних генов в обоих отделах гиппокампа, за исключением Arg (ДГ и ВГ) и SGK-1 (ДГ).

Инъекция скополамина не влияла достоверно на экспрессию большинства ранних генов, за исключением Npas-4, экспрессия которого снижалась в ДГ, и SGK-1, экспрессия которого повышалась в обеих частях гиппокампа после введения скополамина.

Анализ влияния, которое оказывает блокада мускариновых рецепторов на экспрессию ранних генов в гиппокампе после стресса, показал повышение экспрессии генов *Nras-4* и *EGR1* в обоих гиппокампах, а также гена *Arc* в ДГ, которое предотвращалось введением скополамина, что указывает на участие М-холинорецепторов в индукции экспрессии этих ранних генов.

Используя модель острого стресса вынужденного плавания, мы обнаружили, что введение неселективного антагониста мускариновых рецепторов ацетилхолина скополамина оказывало влияние на экспрессию некоторых ранних генов, что говорит о том, что стресс-индуцированное повышение уровня АХ в гиппокампе может давать вклад в развитие долговременных изменений в функционировании нейронов после стресса.

1. De Kloet E.R., Joëls M., Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev.* 2005; 6 (6): 463–475
2. Picciotto M.R., Higley M.J., Mineur Y.S. Acetylcholine as neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron.* 2012; 76 (1): 116–129.
3. Mineur YS, Picciotto MR. The role of acetylcholine in negative encoding bias: Too much of a good thing? *Eur J Neurosci.* 2021 Jan;53(1):114-125. doi: 10.1111/ejn.14641. Epub 2019 Dec 24. PMID: 31821620; PMCID: PMC7282966.

# АПТАМЕРЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ДЛЯ БОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ EGFR И EGFRvIII ОПОСРЕДОВАННЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ

*Дзариева Ф.М.<sup>1</sup>, Шамадыкова Д.В.<sup>1</sup>, Случанко О.В.<sup>2</sup>, Головин А.В.<sup>4,5</sup>, Павлова Г.В.<sup>1,3,4</sup>*

*1 ФГБУН ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия*

*2 ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

*3 НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н.Н. Бурденко, Москва, Россия*

*4 Первый МГМУ имени И.М. Сеченова, Москва, Россия*

*5 ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*E-mail: dz.fatima@mail.ru*

**Ключевые слова:** EGFR, EGFRvIII, глиобластома, аптамер, аптаиммуноцитохимия.

Злокачественные новообразования являются одной из острейших проблем современной медицины. В России в 2021 году они явились второй причиной смерти после патологий сердечно-сосудистой системы[1]. Глиомы же, как наиболее часто встречаемые опухоли головного мозга, остаются серьезной проблемой для человечества, несмотря на развитие технологий и медицины. Их особенности, такие как наличие гематоэнцефалического барьера, иммунное микроокружение и топология представляют ряд трудностей для терапии. Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) на сегодняшний день является одной из наиболее перспективных мишеней терапии, поскольку наблюдается его сверхэкспрессия более чем в 60% глиом [2].

Глиобластома (ГБ) - наиболее агрессивная форма глиом (Grade IV), более 60% ГБ сверхэкспрессируют EGFR, и примерно в половине из них сверхэкспрессия EGFR является результатом мутантной формы рецептора - EGFRvIII[2]. В *EGFRvIII* происходит внутрирамочная делеция экзонов 2–7 ([NM\\_001346941.2](#)), что приводит к сверхэкспрессии укороченного рецептора. Этот прототип онкопротеина не связывается с лигандом и конститутивно активен[3]. По сравнению с EGFRwt, в EGFRvIII отсутствуют аминокислоты 6–273, и удаление этих 268 аминокислот создает сайт соединения с новым остатком глицина между аминокислотами 5 и 274[4].

EGFRvIII увеличивает экспрессию белков, важных для апоптоза, инвазии, стволовости, метаболизма и ангиогенеза, включая VCL-xL, белки внеклеточного матрикса (ECM), аномальный веретенообразный белок, ассоциированный с микроцефалией (ASPM), белок-переносчик глюкозы типа 1 (GLUT1), фактор, ингибирующий лейкемию (LIF) и фактор сплайсинга гетерогенного ядерного рибонуклеопротеина A1 (hnRNPA1). Эти факторы способствуют пролиферации и выживанию.

Редкие клетки в ГБ человека совместно экспрессируют EGFR и EGFRvIII, при этом коэкспрессия EGFR и EGFRvIII делает новообразования более злокачественными.

Аптамеры или малые ДНК (или РНК) - аналоги химических антител имеют ряд преимуществ по сравнению с антителами: проникают через гематоэнцефалический барьер, обладают высокой аффинностью и специфичностью, а также низкой иммуногенностью и токсичностью[5,6].

Аптамеры за счет уникальных третичных структур обладают высоким сродством и специфичностью к белкам-мишеням. Два аптамера в более ранних работах показали антипролиферативные свойства для глиом человека: аптамер U2 [7] и полученный в результате укорачивания U2 с сохранением специфичным структур для связывания с EGFR - Goll.

В этой работе была создана клеточная модель глиомы человека с гиперэкспрессией EGFR и EGFRvIII с последующей оценкой специфичности аптамеров U2 и G01 к данным рецепторам. Исследование проводилось на клеточной культуре глиобластомы G01, полученной из опухолевой ткани пациента, а также в качестве “золотого” стандарта использовалась клеточная линия U87 [8].

В ходе своей работы мы оценивали роль аптамеров U2 и G01 в изменении экспрессии генов молекул сигнальных путей EGFR, приводящих к росту и делению клеток глиобластомы человека, а также к их выживаемости.

#### Список литературы:

1. ADDIN Mendeley Bibliography CSL\_BIBLIOGRAPHY 1. А.Д. Каприн. ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ НОВООБРАЗОВАНИЯ В РОССИИ В 2021 ГОДУ // МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022.
2. Zhou J. et al. CDK4/6 or MAPK blockade enhances efficacy of EGFR inhibition in oesophageal squamous cell carcinoma // *Nat. Commun.* 2017. Vol. 8, № 1. P. 13897.
3. Zok T. et al. RNApdbee 2.0: multifunctional tool for RNA structure annotation // *Nucleic Acids Res.* 2018. Vol. 46, № W1. P. W30–W35.
4. Babic I. et al. EGFR Mutation-Induced Alternative Splicing of Max Contributes to Growth of Glycolytic Tumors in Brain Cancer // *Cell Metab.* 2013. Vol. 17, № 6. P. 1000–1008.
5. Lao Y.-H., Phua K.K.L., Leong K.W. Aptamer Nanomedicine for Cancer Therapeutics: Barriers and Potential for Translation // *ACS Nano.* 2015. Vol. 9, № 3. P. 2235–2254.
6. Zhu G., Chen X. Aptamer-based targeted therapy // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2018. Vol. 134. P. 65–78.
7. Mayer I.A., Arteaga C.L. The PI3K/AKT Pathway as a Target for Cancer Treatment // *Annu. Rev. Med.* 2016. Vol. 67, № 1. P. 11–28.
8. Pavlova G. et al. Novel weapon to conquer human glioblastoma: G-quadruplexes and neuro-inducers. 2021.



# ИССЛЕДОВАНИЕ ЗРИТЕЛЬНОГО КАТЕГОРИЗАЦИОННОГО ОБУЧЕНИЯ В МОДЕЛИ БЫСТРОГО ОБУЧЕНИЯ У ЦЫПЛЯТ (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*)

Диффинэ Е.А.<sup>1,2</sup>, Тиунова А.А.<sup>2</sup>, Анохин К.В.<sup>2</sup>

*1 Биологический Факультет, Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*2 Институт перспективных исследований мозга МГУ имени М.В. Ломоносова.*

**HYPERLINK "mailto:diffinenok@gmail.com" [diffinenok@gmail.com](mailto:diffinenok@gmail.com)**

**Ключевые слова:** зрительная категоризация, кратковременное обучение, поведенческая модель, *Gallus gallus domesticus*.

Категоризация – важнейший когнитивный процесс, ведущий к способности воспринимать похожие, но не идентичные стимулы, как эквивалентные, что позволяет организмам не исследовать каждый новый объект заново [1,2,3]. Однако нейробиологические механизмы категоризации до сих пор остаются не до конца понятными.

В качестве модельного объекта данного исследования были выбраны новорожденные цыплята (*Gallus gallus domesticus*), известные своей способностью к быстрому зрительному научению и врожденной склонностью клевать новые мелкие объекты, запоминая их характеристики. Цыпленка помещали в камеру, на полу которой были приклеены более 100 бусин разных цветов и между ними был рассыпан корм [4]. В сеансе обучения цыпленку давали совершить 80 клевков, фиксируя количество «ошибок» (клевков бусин). Через 24 часа цыплят тестировали, давая совершить 60 клевков. Снижение количества ошибок от первого к последнему блоку во время обучения отражает формирование у животных категории «несъедобных объектов» - бусин, и отнесения к этой категории всех бусин, находящихся в камере. Количество ошибок в первом и последующих блоках из 20 клевков использовалось как критерий обучения (формирования категории ранее неизвестного объекта). В первом эксперименте исследовали возможное влияние предобучения на последующее категоризационное обучение. Для предобучения цыпленка помещали в экспериментальную камеру, на полу которой был только знакомый им корм, и давали совершить 80 клевков, после чего возвращали в домашнюю клетку. Через 24 часа цыпленка вновь помещали камеру с «бусиничным полом» и кормом и давали совершить 80 клевков. Цыплята контрольной группы обучались на «бусиничном полу» без предобучения. Сравнение количества ошибок в процессе обучения не выявило различий между группами, обучавшимися с предобучением и без него. В следующем эксперименте исследовали способность цыплят формировать одновременно две категории – съедобных и несъедобных объектов. Для этого одну из групп обучали на «бусиничном полу», на котором был рассыпан новый, ранее не знакомый им корм. Контрольную группу обучали, используя обычный корм. Мы обнаружили, что при использовании незнакомого корма цыплята совершают больше ошибок в сеансе обучения, чем при обучении на знакомый корм. В то же время, при тестировании через 24 часа после обучения различий между группами не наблюдалось. Этот результат, отражает способность цыплят к одновременному формированию двух категорий, однако такое обучение происходит медленнее, чем формирование одной категории. Далее мы исследовали способность цыплят объединять в одну категорию бусины разного размера. В каждом эксперименте цыплят контрольных групп обучали и тестировали на полу с бусинами одного и того же размера. Цыплят экспериментальных групп обучали на полу с бусинами одного размера и тестировали на полу с бусинами другого размера. Результаты показали, что цыплята включают в сформированную категорию более мелкие объекты, но, по-видимому, не способны включить объекты большего размера. Последующая серия

экспериментов, в которой исследовали роль формы объектов в формировании новой категории показала, что цыплята не способны включать в категорию объекты новой формы. В следующей серии опытов мы исследовали роль цвета объектов в формировании новой категории. При обучении на бусины 5 цветов и добавлении в тесте одного нового цвета большая часть ошибок связана именно с клеванием бусин нового цвета. Далее цыплят обучали на полу с набором цветов №1 (6 цветов) и тестировали на наборе цветов №2, либо в обратном порядке. При тестировании не было выявлено различий между группами, т.е. цыплята успешно включали в сформированную категорию бусины новых цветов. Таким образом, в нескольких тестах экспериментально доказано формирование категории у цыплят при быстром обучении и отработаны условия такого обучения. Данная экспериментальная модель в будущем позволит исследовать нейробиологические механизмы, лежащие в основе категоризационного обучения.

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

1. Edelman G.M. Neural Darwinism: The Theory of Neuronal Group Selection. // N.Y.: BasicBooks. 1978. P. 23-43. <https://doi.org/10.1126/science.240.4860.1802>
2. Herrnstein R. J. Levels of categorization. In Signal and sense. Local and global order in perceptual maps. // N. Y.: John Wiley and Sons Inc. 1990. P. 365–413.
3. Huber L., Aust U.. Mechanisms of perceptual categorization in birds. In: ten Cate C, Healy S (eds) Avian cognition. // Cambridge University Press. 2017. P. 208–228. <https://doi.org/10.1017/9781316135976.012>.
4. Tiunova A.A., Anokhin K.V., Rose S.P. Two critical periods of protein and glycoprotein synthesis in memory consolidation for visual categorization learning in chicks // Learn Mem. 1998. V. 4. №5. P. 401-410. <https://doi.org/10.1101/lm.4.5.401>.

## АНАЛИЗ ФОРМИРОВАНИЯ И СОХРАНЕНИЯ ПАМЯТИ У ЛИНИЙ *D. MELANOGASTER* ИЗМЕНЁННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА *limk1* В РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ НЕЙРОНОВ

Заломаева Е.С.<sup>1,2</sup>, Егозова Е.С.<sup>1</sup>, Медведева А.В.<sup>2</sup>, Журавлев А.В.<sup>2</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: [Zalomaeva.E@yandex.ru](mailto:Zalomaeva.E@yandex.ru)

**Ключевые слова:** *limk1*, *Drosophilamelanogaster*, обучение, память, забывание.

Одной из ключевых задач современной нейрогенетики является углубление знаний о молекулярно-генетических механизмах, вовлеченных в процессы возникновения и развития нейродегенеративных (НДЗ) и геномных заболеваний (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона и др.). Зачастую данные заболевания, характеризующиеся когнитивными нарушениями, сопровождаются дисфункцией каскада ремоделирования актина (Савватеева-Попова и др., 2015). Ключевым регулятором динамики актина является кофилин. Известно, что инактивация кофилина способствует снижению обучения и вызывает тяжелые поведенческие аномалии. Белок *limk1* способствует инактивации кофилина при долговременной потенциации. Следовательно, нарушение синтеза *limk1* изменяет активность кофилина, изменяет морфологию и плотность шипиков, нарушая синаптическую пластичность (Ковалева и др., 2019). Кроме того, в последние годы на первый план выходит стремление понять, какую роль в становлении и сохранении памяти играет активное забывание, регулируемое каскадом ремоделирования актина (Davis, Zhong, 2017).

Изучение влияния нейроспецифической активности гена *limk1* в разных типах нейронов на обучение и забывание у самцов дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания.

Исследование проводили на 5-суточных девственных самцах линий с нарушением и активацией экспрессии гена *limk1* в холинергических, серотонинергических и дофаминергических нейронах, а также у линий без нарушения таковой экспрессии. Для изменения экспрессии гена *limk1* у самцов *D. melanogaster* применяли систему скрещивания Gal4/UAS. Способность к обучению и формированию памяти оценивали методом условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) самца за оплодотворенной самкой. Для выработки УРПУ самца исследуемой линии помещали в экспериментальную камеру вместе с оплодотворенной самкой линии дикого типа *Canton-S* на 30 минут. Обученных самцов тестировали через разные промежутки времени. В качестве контроля использовали самцов, не имевших опыта полового поведения. За поведением самцов наблюдали в течение 300 секунд, фиксируя при помощи специальной программы длительность отдельных элементов поведения. Для оценки эффективности обучения вычисляли индекс обучения (ИО). Для оценки активности процессов забывания провели анализ скорости снижения ИО на коротких временных интервалах (0, 15, 30 и 60 мин после тренировки). Для расшифровки и анализа данных использовали специально разработанные компьютерные программы (автор программ - Н.Г. Камышев). Для статистической обработки данных применяли двусторонний тест рандомизации ( $p \leq 0,05$ ).

Анализ ИО линий с изменением экспрессии гена *limk1* в дофаминергических и серотонинергических нейронах выявил, что контрольная линия способна к обучению и сохранению памяти вплоть до 30 мин. Подавление *limk1* в дофаминергических и серотонинергических нейронах не оказывает значимого эффекта на ИО. Активация же *limk1* в

этих нейронах снижает ИО, статистически не отличающийся от нуля уже сразу после тренировки. При анализе ИО линий с изменением экспрессии гена *limk1* в холинергических нейронах выявлено, что контрольная линия способна к обучению и сохранению памяти вплоть до 60 мин. Подавление *limk1* в холинергических нейронах ускоряет забывание: спустя 60 мин после тренировки ИО не отличается от нуля, но отличается от контроля и точки сразу после тренировки. Активация *limk1* в холинергических нейронах имеет аналогичный эффект: отличий ИО от нуля не наблюдается уже спустя 15 мин после тренировки, а спустя 30 минут ИО уже отличается от 0 минут. Изменение экспрессии гена *limk1* в холинергических нейронах ускоряет забывание.

Таким образом, способность к обучению и сохранению памяти, а также активность процессов забывания определяется активностью *limk1* в конкретных нейронах. Полученные данные говорят о безусловной вовлеченности гена *limk1* в процессы врожденного забывания.

Список литературы:

1. Ковалева Т.С. Кофилин: молекулярно-клеточные функции и роль в функционировании нервной системы / Т.С. Ковалева, Н.С. Максимова, И.Ю. Жуков и др. // Нейрохимия - 2019. –Т. 36. №1. – С. 14-23.
2. Савватеева-Попова Е.В. От нейрогенетики к нейроэпигенетике / Е.В. Савватеева-Попова, Е.А.Никитина, А.В. Медведева // Генетика - 2015. - Т. 51. № 5. - С. 613–624.
3. Davis, R.L. The Biology of Forgetting-A Perspective / R. L. Davis, Y. Zhong // Neuron. – 2017. – Vol. 95. – P. 490-503.

**Финансовая поддержка: Госпрограмма 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019-2030), тема 0134-2019-0004.**

# МОДЕЛИРОВАНИЕ ОСОБО УСТОЙЧИВОЙ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ НА ОСНОВЕ МОДЕЛИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА У МЫШЕЙ

*Заморина Т.А.<sup>1,2</sup>, Торопова К.А.<sup>2,3</sup>, Ивашкина О.И.<sup>2,3</sup>, Анохин К.В.<sup>2,3</sup>*

*1 Биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,*

*2 Институт перспективных исследований мозга, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия,*

*3 Лаборатория нейронного интеллекта МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*E-mail: [tatazamorina@gmail.com](mailto:tatazamorina@gmail.com)*

**Ключевые слова:** посттравматическое стрессовое расстройство, аверсивная память, условно-рефлекторное замирание, блокада синтеза белка, циклогексимид.

Выявление механизмов, лежащих в основе особо устойчивой долговременной памяти, остается одной из наиболее значимых нерешенных задач в нейробиологии. Тем не менее в настоящее время нет надежной экспериментальной модели такой памяти, которая бы позволяла исследовать механизмы ее формирования. Такая модель может быть разработана на основе модели посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) у мышей [1] в связи с тем, что после обучения в данной парадигме у животных формируется устойчивая к угашению память, которая сопровождается долговременными перестройками в поведении [2]. Целью данной работы является экспериментальное моделирование и изучение нейробиологических механизмов формирования особо устойчивой долговременной памяти после однократного обучения у взрослых мышей на основе модели ПТСР.

Для индукции ПТСР животных помещали в новую обстановку и наносили электрокожное раздражение (ЭКР, 3 удара током по лапам, 1,5 мА, 10 с). В качестве контрольных использовали группу с нормальной аверсией памяти, обученную в парадигме условно-рефлекторного замирания (УРЗ, 1 удар током, 1,0 мА, 2 с) на обстановку и группу активного контроля (АК), не получавшую удара током, а просто обследовавшую новую обстановку. Для тестирования памяти животных повторно помещали в обстановку обучения спустя 7 дней или 1, 3, 6 и 12 месяцев после обучения. На следующий день после тестирования ассоциативной памяти проводили тестирование на сенситизацию, предъявляя животным незнакомый звук в новой обстановке. Уровень генерализации страха тестировали в обстановке в некоторых чертах сходной с обстановкой обучения. Тревожность оценивали в тесте приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ).

Для группы ПТСР был характерен повышенный уровень страха по отношению к обстановке обучения по сравнению с группой АК и повышенный уровень тревожности по сравнению с группами АК и УРЗ вплоть до 3-х месяцев после индукции. Кроме того, животные группы ПТСР демонстрировали более высокий уровень сенситизации и генерализации страха, чем группы УРЗ и АК, спустя 7 дней после обучения. Эти результаты показывают, что индукция ПТСР может служить моделью устойчивой долговременной памяти у лабораторных животных. Так как консолидация долговременной памяти является зависимым от синтеза белка процессом [3], чтобы охарактеризовать устойчивость травматической памяти мы провели ее нарушение при формировании путем введения блокатора синтеза белка циклогексимида (95 мг/кг). При нарушении нормальной аверсивной памяти животные демонстрировали сниженный уровень страха в обстановке обучения спустя 7 и 30 дней по сравнению с контрольной группой, получавшей инъекцию физраствора (ФР). В случае нарушения травматической памяти

животные имели более низкий уровень страха в обстановке обучения, по сравнению с группой ПТСР, получавшей инъекцию ФР, и не имели повышенного уровня сенситизации или генерализации. В то же время уровень страха данной группы животных не отличался от такового у животных с ненарушенной нормальной аверсивной памятью. Таким образом, аверсивная память полностью нарушается в результате блокады синтеза белка при ее формировании, тогда как травматическая память в таких условиях только частично ослабляется.

В связи с тем, что формирование нормальной аверсивной памяти нарушается, если аверсивное воздействие (удар током) животные получают немедленно – сразу после помещения в экспериментальную камеру [4], мы предположили, что расставление по времени травматического опыта и экспозиции в обстановке может привести к нарушению развития ПТСР. Мы показали, что немедленное сильное ЭКР не приводило к формированию повышенного уровня страха у мышей при повторном помещении их в обстановку обучения: уровень страха не отличался от такового у мышей с нормальной аверсивной памятью. Если сильное ЭКР наносили спустя 3 дня после экспозиции в будущей обстановке травмы, впоследствии мыши не демонстрировали повышенного уровня страха в незнакомой обстановке и повышенного уровня тревожности в тесте ПКЛ, свойственных для животных с ПТСР.

Нами было показано, что травматическая память обладает особой устойчивостью к таким сильным нарушающим воздействиям, как блокада синтеза белка; при длительных сроках хранения аверсивная память имеет тенденцию к угасанию со временем, тогда как травматическая память остается устойчивой как минимум в течение 3-х месяцев. Также было показано, что наличие сформированной обстановочной памяти о ситуации травмы является необходимым условием для формирования травматической памяти и развития ПТСР у мышей.

46 *Исследование выполнено при поддержке Некоммерческого Фонда развития науки и образования «Интеллект».*

Список литературы:

1. Siegmund A., Wotjak C. T. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear// J Psychiatr Res. 2007. Т. 41. С. 848–860. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.07.017>
2. Louvart H., Maccari S., Ducrocq F., Thomas P., Darnaudéry M. Long-term behavioural alterations in female rats after a single intense footshock followed by situational reminders // Psychoneuroendocrinology. 2005k. Т. 30. № 4. С. 316–324. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.09.003>.
3. Kwapis, J.L., Jarome, T.J., Schiff, J.C., Helmstetter, F.J. Memory consolidation in both trace and delay fear conditioning is disrupted by intra-amygdala infusion of the protein synthesis inhibitor anisomycin// Learn Mem. 2011. Т. 18. №11. С. 728–732. <https://doi.org/10.1101/lm.023945.111>
4. Rudy J. W., Huff N. C., Matus-Amat P. Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model// Neurosci. Biobehav. Rev. 2004. Т. 28. № 7. С. 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.004>.

## ХУДОЖЕСТВЕННАЯ НАРОДНАЯ РОСПИСЬ СКВОЗЬ ПРИЗМУ ПСИХОФИЗИОЛОГИИ: АЙТРЕКИНГ ИССЛЕДОВАНИЕ

*Зинченко Е.М. \*, Лазунина Е.А.*

*Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия  
\*e-mail: [Odonata1108@yandex.ru](mailto:Odonata1108@yandex.ru)*

**Ключевые слова:** гжель, хохлома, окуломоторная активность, айтрекинг.

Народные ремесла сопровождают культурное развитие человека на протяжении веков, тесно переплетаясь с бытовой сферой жизни. Тем самым художественная роспись оказывает непосредственное влияние на сознание человека. В настоящее время мы можем видеть нестандартное использование художественной народной росписи. Так, например, мотивы гжели и хохломы можно увидеть в интерьере, упаковке товаров, более того сейчас можно встретить даже татуировки, выполненные в этой стилистике. О том, как воспринимается народная роспись можно судить по психофизиологическим параметрам, как окуломоторная активность (ОМА). ОМА отражает психические процессы, с которыми связаны особенности получения и переработки зрительной информации. В связи с этим целью исследования явилось изучение окуломоторной активности студентов при рассмотрении народной росписи (на примере гжели и хохломы).

Исследование проводилось в СГУ имени Н.Г. Чернышевского. В эксперименте приняли участие 55 студентов в возрасте 17-19 лет. Для выявления особенностей ОМА использовали стационарный айтрекер (модель RED 500 System, произведенного SMI (SensoMotorik Instruments GmbH, Германия)). В качестве стимульного материала были отобраны 4 изображения по каждому направлению народной росписи: цветок, птица, полотно с цветами и тарелка с росписью. На экране айтрекера предъявлялось по одному изображению, которое участники должны были свободно рассматривать в течение 10 секунд. После рассмотрения участников исследования просили оценить гжель и хохлому по 10-бальной шкале и назвать какое из направлений они предпочитают. Для установления достоверных различий между показателями использовали критерий Манна-Уитни, корреляционный анализ по Пирсону проводили для установления связей параметров ОМА с уровнем предпочтения той или иной росписи.

В ходе исследования было установлено следующее распределение участников с учетом предпочтения того или иного вида художественной народной росписи: 35% студентов выбрали гжель, 65% - хохлому. По результатам анализа ОМА было обнаружено, что общая продолжительность моргания (мс) достоверно больше у респондентов при рассмотрении хохломы по сравнению с гжелью ( $176 \pm 17$  и  $155 \pm 23$  соответственно,  $p \leq 0,05$ ). Общая продолжительность фиксаций (мс) и количество фиксаций (шт) также существенно выше при восприятии хохломы ( $180 \pm 87$  и  $172 \pm 82$ ;  $16,2 \pm 3,61$  и  $14,72 \pm 5,17$  соответственно,  $p \leq 0,05$ ). Размер зрачка (мм) меньше при рассмотрении сине-белых изображений по сравнению с желто-красными ( $4,34 \pm 0,73$  и  $3,86 \pm 0,63$  соответственно,  $p \leq 0,05$ ). Таким образом, хохлома связана с большим эмоциональным возбуждением.

Дальше был проведен корреляционный анализ между оценкой той или иной художественной народной росписи и значениями ОМА. Взаимосвязи оценивали для каждой группы с учетом рассмотрения отдельно гжели и хохломы. Так были обнаружены следующие корреляционные связи у лиц, предпочитающих гжель. Количество, частота и продолжительность фиксаций положительно коррелирует ( $0,205$ ;  $0,205$ ;  $0,206$  соответственно,  $p \leq 0,001$ ), а общая скорость

саккад отрицательно коррелируют с оценкой гжели при рассмотрении сине-белых изображений (-0,168,  $p \leq 0,05$ ). То есть, чем больше нравится гжель, тем больше будут ее рассматривать и меньше сканировать. При рассмотрении хохломы для этих лиц установлена отрицательная корреляционная связь для оценки хохломской росписи с количеством, частотой и продолжительностью морганий (-0,255; -0,255; -0,217 соответственно,  $p \leq 0,05$ ), положительно этот параметр связан с продолжительностью фиксации (0,297). Количество и скорость саккад отрицательно коррелируют с оценкой хохломы (-0,239; -0,198 соответственно  $p \leq 0,05$ ), а средний латентный период саккад – положительно (0,288,  $p \leq 0,001$ ).

Также были выявлены определенные корреляционные связи у лиц, предпочитающих хохлому. Количество и частота фиксации положительно коррелирует с оценкой гжели при рассмотрении этого же вида росписи (0,294 и 0,294 соответственно,  $p \leq 0,001$ ) и отрицательно со средним латентным периодом саккад (-0,189,  $p \leq 0,05$ ). При рассмотрении хохломы выявлена положительная корреляционная связь для оценки хохломы с общей продолжительностью морганий, средней продолжительностью фиксации и средней скоростью саккад (0,190; 0,183; 0,223 соответственно,  $p \leq 0,05$ ) и отрицательная - с количеством, частотой и общей продолжительностью саккад (-0,229; -0,229; -0,206 соответственно,  $p \leq 0,05$ ). Чем больше нравится хохлома, тем дольше продолжительность морганий и тем меньше нравится гжель. Таким образом, гжель не вызывает такого эмоционального возбуждения у лиц, предпочитающих хохлому, в связи с чем они оцениваю сине-белую роспись как менее привлекательную для себя.

Полученные результаты говорят о необходимости дальнейшего изучения этого вопроса с целью выявления более детальных данных с учетом особенностей изображений и предпочтением испытуемым направления народной росписи. Учитывая особенности восприятия гжели и хохломы, а также влияния народной росписи на эмоциональный фон человека, представляется возможным использование этого направления в изо-терапии.



## ИНТРАНАЗАЛЬНЫЙ ИНСУЛИН ВЛИЯЕТ НА ЭКСПРЕССИЮ NO-СИНТАЗЫ ПРИ ДВУХСТОРОННЕЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МОЗГА КРЫС

Зорина И.И., Печальнова А.С., Шпаков А.О.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: [zorina.inna.spb@gmail.com](mailto:zorina.inna.spb@gmail.com)

**Ключевые слова:** интраназальный инсулин, ишемия головного мозга, нейропротекция.

Острые нарушения мозгового кровообращения занимают лидирующие позиции среди основных причин смертности и инвалидизации в Российской Федерации. Несмотря на то, что ряд фармакологических препаратов продемонстрировали значимую нейропротекторную активность в пилотных исследованиях, их эффективность не была в полной мере продемонстрирована в условиях клиники, чем объясняется отсутствие нейропротекторов в клинических рекомендациях по лечению инсульта и ишемических повреждений мозга, в том числе и за рубежом. Вследствие этого продолжается поиск новых лекарственных препаратов с активностью нейропротекторов, направленных на профилактику, системную терапию и последующую реабилитацию пациентов после инсульта. Сейчас значительный интерес представляет изучение терапевтического потенциала интраназально вводимого инсулина (ИВИ), который при этом способе доставки значимо не влияет на периферический глюкозный гомеостаз, не вызывая гипогликемических эпизодов, но оказывает выраженное положительное воздействие на головной мозг при нейродегенеративных и метаболических заболеваниях, что показано в доклинических и клинических испытаниях. В то же время работы по изучению терапевтического потенциала и механизмов действия ИВИ при церебральной ишемии единичны и противоречивы. Имеются данные, что инсулин наделен свойствами вазоактивного гормона, вовлеченного в регуляцию мозгового кровотока, что иллюстрирует его способность влиять на активность NO-синтазы через посредство активации Akt-киназы, одной из мишеней инсулина, но влияние инсулина на NO-синтазные пути при ишемии-реперфузии (ИР) головного мозга не исследовано. Целью нашего исследования было изучить влияние ИВИ на экспрессию эндотелиальной и нейрональной изоформ NO-синтазы, eNOS и nNOS, в коре мозга крыс, перенесших ИР. За 60 мин до индукции ИР крысам Wistar (350–400 г) вводили ИВИ (0.5 МЕ/животное), ложнооперированным (ЛО) крысам – 0.9% NaCl. Двухсосудистую ишемию переднего мозга вызвали путем пережатия общих сонных артерий на 20 мин в сочетании с гипотензией. Затем проводили реперфузию, возобновляя подачу крови в мозг. Через 60 мин выделяли кору мозга крыс, которую использовали для оценки экспрессии генов методом RT-ПЦР с обратной транскрипцией и для определения соотношения pAkt(Ser<sup>473</sup>)/Akt методом иммуноблоттинга. Расчет уровня экспрессии генов проводили с помощью метода  $\Delta\Delta CT$  и выражали в RQ, используя экспрессию гена 18S рРНК в качестве референсного. Активность Akt-киназы, определяемая по соотношению pAkt(Ser<sup>473</sup>)/Akt, была повышена как у крыс с ИР, так и у ИР-животных с обработкой ИВИ. Мы полагаем, что при ИР это носит компенсаторный характер, поскольку Akt-сигнальный путь рассматривается, как потенциальный нейропротекторный каскад. В сравнении с группой ЛО, уровень экспрессии гена eNOS в группе крыс с ИР и в группе ИР-животных с обработкой ИВИ повышался в среднем в 2.5 раза. Это повышение может быть направлено на нормализацию мозгового кровотока в условиях недостатка кислорода при ишемических повреждениях мозга. Экспрессия гена *NOS1*, кодирующего nNOS, была повышена у ИР-крыс, обработанных ИВИ, а в группе ИР без такой обработки она, напротив, была снижена. Поскольку, согласно данным литературы, повышение активности nNOS в нервной ткани и увеличение образования NO при ишемии выполняют защитную функцию, то повышение экспрессии гена *nNOS* может быть одним из механизмов нейропротекторных свойств ИВИ при ИР.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-01083).*

# АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ИНСУЛИНА В МОДЕЛИ ТРАНЗИТОРНОЙ ДВУХСОСУДИСТОЙ ИШЕМИИ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА У СТАРЕЮЩИХ САМЦОВ КРЫС

*Зорина И.И., Захарова И.О., Баюнова Л.В., Шпаков А.О.*

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: [zorina.inna.spb@gmail.com](mailto:zorina.inna.spb@gmail.com)*

**Ключевые слова:** интраназальный инсулин, старение, церебральная ишемия, нейропротекция.

Успешность доклинической стадии исследования нейропротекторов при церебральной ишемии зависит от используемой модели и состояния животных. Изучение большинства кандидатных препаратов для лечения ишемических повреждений мозга осуществляется при использовании экспериментальных моделей на молодых животных, что в дальнейшем приводит к значимым проблемам при их клинических испытаниях для лечения пожилых людей. Одной из возможных причин низкой эффективности препаратов на стадии клинических испытаний является фактор возраста, который играет важную роль в восстановлении мозга после инсульта. Одним из препаратов с высоким защитным потенциалом при ишемии мозга может быть интраназально вводимый инсулин (ИВИ). Инсулин обладает нейропротекторными и нейромодуляторными свойствами, оказывает положительное воздействие на когнитивные функции, что доказано в ряде клинических испытаний ИВИ у пациентов с нейродегенеративными расстройствами. Целью нашего исследования было изучение влияния ИВИ на накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в коре мозга стареющих крыс (возраст 22-24 мес.), перенесших двухсосудистую ишемию и реперфузию (ИР). Эксперименты выполняли на самцах крыс линии Wistar. Инсулин в дозе 0.25 МЕ/животное животным вводили интраназально за 1 ч до индукции ишемии. Для анестезии использовали хлоральгидрат (в/б, 400 мг/кг). Двухсосудистая ишемия вызывалась путем пережатия обеих общих сонных артерий в сочетании с гипотензией в течение 20 мин. Реперфузия, которая длилась 3 ч, осуществлялась путем разжимания сосудистых клипс и восстановления мозгового кровотока. В качестве контроля использовали ложнооперированных (ЛО) крыс, у которых проводили хирургическое вмешательство без индукции ишемии и гипотензии. По окончании реперфузии у животных выделяли кору головного мозга, в которой оценивали содержание продуктов ПОЛ. Для этого проводили экстракцию липидов по методу Фолча. В полученном липидном экстракте определяли содержание диеновых и триеновых конъюгатов, используя его для расчета индекса окисленности липидов, а также содержание оснований Шиффа (ОШ). ИР переднего мозга приводила к усилению процессов ПОЛ в коре мозга стареющих крыс. Индекс окисленности липидов значимо повышался в коре мозга стареющих крыс, перенесших ИР, по сравнению с этим показателем у ЛО-животных ( $p < 0.05$ ). Показано увеличение содержания ОШ в группе ИР, что также свидетельствует об усилении процессов ПОЛ. Обработка ИР-крыс с помощью ИВИ до индукции ИР вызывала значимое снижение индекса окисленности липидов и содержания ОШ в коре мозга ( $p < 0.05$ ), что свидетельствует в пользу антиоксидантного эффекта ИВИ при ИР. Антиоксидантный эффект ИВИ у стареющих крыс был описан впервые, в то время как ранее нами было показано антиоксидантное действие ИВИ у молодых животных с ИР, хотя в этом случае использовали более высокую дозу ИВИ (0.5 МЕ/животное). Полученные данные указывают на универсальность антиоксидантного эффекта ИВИ при ИР у крыс различного возраста и на значимый вклад этого эффекта в нейропротекторное действие ИВИ при ишемических повреждениях мозга, в том числе у стареющих животных.

*Работа поддержана госзаказом ИЭФБ РАН № 075-00967-23-00.*

## **КОРОТКОВОЛНОВЫЙ КОЛБОЧКОВЫЙ ОПСИН КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНОЙ СЕТЧАТКИ**

*Иджилова О.С.<sup>1</sup>, Колотова Д.Е.<sup>1</sup>, Смирнова Г.Р.<sup>1</sup>, Абонакур А.<sup>1,2</sup>, Малышев А.Ю.<sup>1</sup>*

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

*2 Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Московская область, Россия*

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

**Ключевые слова:** оптогенетика, оптогенетическое протезирование, дегенерация сетчатки, аденоассоциированный вирус, опсин колбочек.

В работе осуществлено протезирование дегенеративной сетчатки модельных грызунов методом интравитреальной вирусной трансдукции гена коротковолнового колбочкового опсина. С помощью поведенческого тестирования оценено восстановление зрительной функции после операции. Показано достоверное улучшение способности к обучению в трапециевидном водном лабиринте Морриса с визуальным ориентиром у животных экспериментальной группы по сравнению с контрольной.

В связи с отсутствием эффективных методик лечения наследственных дистрофий сетчатки, сейчас интенсивно разрабатывается генная терапия. В частности, в рамках оптогенетического подхода выжившие клетки сетчатки «протезируются»: в них вводится ген опсина и, как следствие, эти клетки приобретают светочувствительные свойства и начинают компенсировать функцию погибших фоторецепторов. При разработке такого нестандартного метода главной задачей является подбор подходящего опсина, а также целевых клеточных элементов сетчатки для протезирования. В данной работе на модельных слепых мышах протестирован один из вариантов такой методики, основанный на неселективной экспрессии позвоночного опсина колбочек во всех доступных типах клеток сетчатки.

Экспериментальным животным, нокаутным по гену бета-субъединицы фосфодиэстеразы палочек, в возрасте 3-4 месяцев был интравитреально введен вирус AAV2-CAG-SWopsin-mCherry, содержащий последовательность коротковолнового опсина колбочек, либо контрольный вирус AAV2-CAG-fGFP (n=7 в обеих группах). Спустя две недели было проведено 7-дневное поведенческое тестирование, после которого приготовлены препараты сетчатки для морфологического контроля. Трапециевидная модификация водного лабиринта Морриса имела два рукава, в конце одного из них находилась скрытая платформа, а также подвешенный над нею светящийся зрительный ориентир, состоящий из светодиодных полос с максимумом излучения на длине волны 470 нм (рис. 1). Положение платформы чередовалось между рукавами в псевдослучайном порядке. По итогам каждого дня обучения для каждой мыши рассчитывалась доля успешных попыток, в ходе которых животное в течение отведенного времени (1 минута) успевало найти скрытую платформу без заходов в неосвещенный рукав лабиринта.

В экспериментальной группе у шести животных из семи на препаратах сетчатки был обнаружен достаточный уровень экспрессии конструкции, оцениваемый по уровню флуоресценции mCherry. Продукт присутствовал в ганглиозных, биполярных, а также горизонтальных клетках сетчатки. Мыши, инъецированные геном опсина, сделали в среднем  $78 \pm 3\%$  успешных попыток (среднее значение за последние четыре дня обучения), в то время как контрольные:  $70 \pm 2\%$  ( $p < 0,05$ , t-критерий Стьюдента) (рис. 2).

Стратегия неселективной экспрессии экзогенного коротковолнового колбочкового опсина в клетках сетчатки привела к улучшению способности к зрительному обучению у мышинной модели дегенерации фоторецепторов. Судя по результатам, вероятно, что у животных контрольной группы на момент обучения еще сохранялось остаточное зрение, что наблюдается и у пациентов на ранних и средних стадиях заболевания. Тем не менее, протезированные животные справились с задачей лучше, что создает предпосылки для применения данной стратегии в клинической практике.

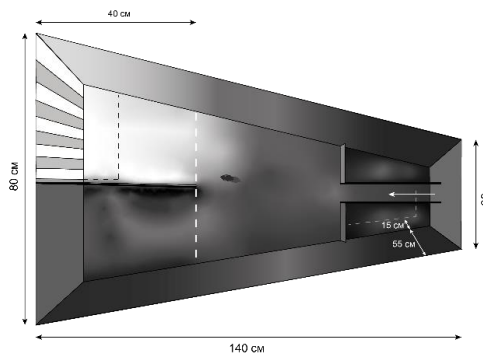


Рис. 1. Трапециевидный водный лабиринт Морриса. Белой стрелкой отмечен стартовый отсек. Белый пунктир — линия принятия решения. Черный пунктир — скрытая под водой платформа.

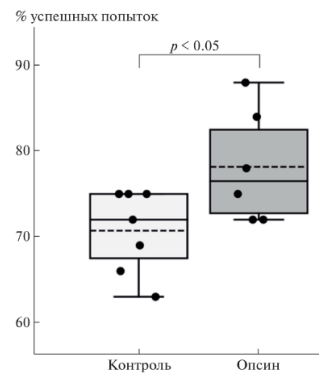


Рис. 2. Результаты тестирования в водном лабиринте. Пунктирные линии — средние значения распределений, сплошные линии — медианы. Усы охватывают 1,5 межквартильных расстояния от первого или третьего квартилей.

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА ПАЦИЕНТОВ В РАННИЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА: СВЯЗЬ С ОТСРОЧЕННЫМИ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ

*Иерусалимский Н.В.<sup>1,2</sup>, Самотаева И.С.<sup>1,2</sup>, Каримова Е.Д.<sup>1,2</sup>, Жанина М.Ю.<sup>1,2</sup>,  
Дружкова Т.А.<sup>2</sup>, Гуляева Н.В.<sup>1,2</sup>*

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

<sup>2</sup>ГБУЗ «Научно-практический психоневрологический центр имени З.П. Соловьева»

Департамента здравоохранения города Москвы, Россия.

E-mail [ierusalimskii.nv14@physics.msu.ru](mailto:ierusalimskii.nv14@physics.msu.ru)

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография; ишемический инсульт; депрессия; когнитивные нарушения; морфометрический анализ.

Последствиями ишемического инсульта (ИИ) (даже легкой и умеренной степени, без значимых неврологических последствий) могут быть постинсультные когнитивные нарушения (ПКН) и постинсультные депрессивные расстройства (ПДР). Причины их развития у пациентов после ИИ до сих пор остаются малоизученными, при этом не выявляются однозначные связи с тяжестью и локализацией инфаркта мозга.

Предполагается, что предсуществующие изменения в определенных структурах головного мозга могут быть ассоциированы с развитием постинсультных нарушений, и в этом случае последствия ИИ можно рассматривать в рамках концепции «двух ударов», первым из которых являются предшествующие ИИ изменения мозга (напр. вызванные факторами риска ИИ), а вторым - непосредственно ИИ. В этом случае объемы структур мозга в ранний период инсульта могли бы быть предикторами развития постинсультных когнитивных и депрессивных нарушений.

Проверить поставленную гипотезу и выявить структуры, ассоциированные с развитием каждого типа постинсультных нарушений. Также проанализировать связи объемов структур, психометрических шкал и биохимических показателей, характеризующих функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), симпатoadреналовой медуллярной системы (САМС), и процессы воспаления.

В исследовании приняли участие 23 пациента (18 мужчин, 5 женщин, средний возраст  $57 \pm 11$  лет) с легким или умеренным ИИ, проходившие лечение в ГБУЗ им. Кончаловского. Оценка биохимических параметров (кортизол, ИЛ-6, амилаза), а также неврологических, психиатрических и когнитивных показателей состояния испытуемых (по шкалам NIHSS, MoCA, HADS, BDI, HAM) проводилась на 1-е, 30-е, 180-е и 365-е сутки после ИИ. МРТ головного мозга проводили на сканере с индукцией магнитного поля 1,5 Тл (“SIGNA” HDxt, GE Medical Systems, США) в острый период ИИ. Для получения анатомического изображения использовали последовательность IR-FSPGR-3DT1 ax (TR=7 мс, TE= 3 мс, матрица реконструкции –  $256 \times 256$ , толщина слоя 1 мм, FoV=90, flipangle=12, расстояние между срезами -1мм). Определение морфометрических характеристик структур головного мозга выполняли с помощью пакета программ FreeSurfer 7.2.0.

В ходе исследования пациенты были разделены на четыре подгруппы: пациенты без ПКН, пациенты с ПКН, пациенты без ПДР, пациенты с ПДР. Были рассмотрены структуры: гиппокамп, энторинальная кора, миндалина, супрамаргинальная извилина, височный полюс, средняя височная извилина, каудальная часть передней поясной коры. Были определены суммарные по обоим полушариям значения объемов структур, которые затем были нормированы на индивидуальные полные внутрочерепные объемы. Для сравнения двух

несвязанных выборок был использован t-тест Стьюдента или тест Манна-Уитни. Для сравнения двух связанных выборок был применен t-тест Стьюдента или тест Вилкоксона. Корреляции считали при помощи теста Спирмена. При  $p < 0.05$  различия считали достоверными; при  $p < 0.1$  - на уровне тенденции к достоверности.

В группе пациентов с ПДР по сравнению с пациентами без ПДР объем гиппокампа, энторинальной коры и височного полюса был достоверно меньше. У пациентов с ПКН по сравнению с пациентами без ПКН объем височного полюса и супрамаргинальной извилины был достоверно меньше. Выявлены отрицательные корреляции объема структур и шкал, оценивающих депрессию: для височного полюса - начиная с 7-х суток после инсульта, для гиппокампа – начиная с 30 суток после инсульта, для энторинальной коры – начиная с 180 суток после инсульта. Показаны положительные корреляции объема структур и шкалы, оценивающей когнитивный статус: для височного полюса и супрамаргинальной извилины - на 30-е и на 365-е сутки после ИИ. Выявлены корреляции уровня биохимических показателей в 1-е сутки после инсульта и объема структур: отрицательные - для кортизола в волосах и височного полюса у подгрупп пациентов без ПКН, с и без ПДР; для кортизола в слюне и височного полюса у подгруппы без ПДР; для ИЛ-6 и височного полюса у пациентов с ПКН; положительные - для  $\alpha$ -амилазы в слюне и височного полюса, а также  $\alpha$ -амилазы в слюне и энторинальной коры - для подгруппы без ПДР.

**ВЫВОДЫ:** Сниженные объемы гиппокампа, энторинальной коры, височного полюса и супрамаргинальной извилины в ранний период ИИ могут быть предикторами развития ПКН и ПДР. Обнаружены ассоциации объемов структур у групп пациентов с показателями функционирования ГГНО и САМС в раннем периоде ИИ, а также уровнем кортизола в месячный период, предшествовавший стрессу ("уровень накопленного стресса"). Полученные результаты не противоречат выдвинутой гипотезе, однако требуется ее дальнейшая валидизация. В частности, предполагается провести исследование динамики объема структур мозга на когорте пациентов с фокальным повреждением головного мозга, для которого отсутствуют эндогенные факторы риска (например, легкая или умеренная черепно-мозговая травма).

55

*Работа поддержана РНФ, грант № 21-75-20112*

## АНАЛИЗ ХАРАКТЕРИСТИК ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ РЕЧИ ДЕТЕЙ 8-11 ЛЕТ

*Ильяс А.*

*Санкт-Петербургский Государственный университет*

*\*e-mail: [abilay460@gmail.com](mailto:abilay460@gmail.com)*

**Ключевые слова:** электроглоттография (ЭГГ), частота основного тона (ЧОТ), эмоции, речь, ребенок.

Для изучения формирования эмоциональной сферы детей с типичным и атипичным развитием разработана методика Child Emotional Development Method (CEDM) (Lyakso et al., 2022). Методика CEDM включает в себя тестовые задания, которые позволяют оценить, как дети воспринимают эмоции других людей и проявляют эмоции в речи, мимике и поведении. При проведении тестирования по CEDM осуществляется аудио запись речи и видеозапись поведения, мимики ребенка. Для оценки отражения эмоционального состояния в речи определяют значения частоты основного тона (ЧОТ) (Lyakso et al., 2015-2023), оценивают параметры электроглоттограммы (ЭГГ) (Grigorev et al., 2022). Метод электроглоттографии позволяет оценить колебания истинных голосовых складок в процессе фонации.

Цель исследования – определить характеристики эмоциональной речи типично развивающихся детей 8-11 лет. В исследовании приняли участие 15 детей - 5 девочек и 10 мальчиков, в возрасте 8-11 лет. С использованием методики CEDM произведено тестирование детей, видеозапись поведения и мимики, аудиозапись речи детей при выполнении тестовых заданий. Задания на отражение эмоций: диалог ребенка с экспериментатором со стандартным набором вопросов; игра с набором игрушек; «актерская игра» - ребенка просят изобразить разные эмоциональные состояния; интервью об эмоциях – экспериментатор задает вопросы о том, какие эмоции знает ребенок, как он может их описать; рисунок эмоционального лица; цветовой тест Люшера. Задания на восприятие эмоций: видео тесты – определение эмоций по статическим изображениям лиц детей и взрослых, изображениям глаз; рассказ истории по картинкам; просмотр мультфильма и ответы на вопросы; аудио тест - определение эмоций по речи (Lyakso et al., 2022, Фролова и др., 2023). На основании анализа видеозаписей производится балльная оценка по шкалам, характеризующим отражение и восприятие эмоций ребенком (Lyakso et al., 2022, Фролова и др., 2023). Анализировали текст речи детей в ситуации диалога с экспериментатором и интервью об эмоциях: определяли структуру ответных реплик (реплика ребенка представляет собой одно слово, простое предложение, два простых предложения, несколько простых предложений, повтор части вопроса экспериментатора, сложноподчиненное предложение) и частоту употребления детьми различных частей речи. Считали обратный индекс разнообразия Симпсона для типов реплик и частей речи, используемых ребенком. Регистрация ЭГГ проведена для 5 детей, при произнесении актерской речи в состояниях «нейтральное – печаль – страх – гнев – радость» с использованием электроглоттографа Model 7050A (VoceVista, the Netherlands). При анализе ЭГГ определяли следующие параметры: значения коэффициента CQ (the closed quotient) и значения частоты основного тона (ЧОТ).

На основании корреляционного анализа (корреляция Спирмена,  $p < 0,05$ ) установлена связь между индексом разнообразия слов в ситуации интервью об эмоциях и баллами по шкале отражение эмоций (0.76) и восприятие эмоций (0.72). Баллы ребенка по шкале отражение эмоций связаны с частотой употребления прилагательных в модельной ситуации интервью (0.85) - чем выше у ребенка баллы по шкале отражение эмоций, тем чаще он употребляет разнообразные прилагательные. Пол ребенка связан с частотой употребления реплик, содержащих сложноподчиненными предложениями (-0,64) – девочки чаще, чем мальчики



употребляют такие реплики. Возраст ребенка связан с индексом разнообразия ответных реплик (0,73).

На основании анализа ЭГГ показано, что максимальные значения ЧОТ характерны для высказываний детей в состоянии гнева (314 Гц) и радости (301 Гц), минимальные значения ЧОТ - для высказываний в нейтральном состоянии (260 Гц). Максимальные значения СQ показаны в высказываниях детей в состоянии страха и гнева, минимальные - в нейтральном состоянии.

Таким образом, в работе определены характеристики эмоциональной речи детей 8-11 лет: значения ЧОТ и СQ; получены данные о типах реплик и частоте употребления разных частей речи детьми в модельных ситуациях диалог и интервью; определены связи между баллами по шкалам отражение эмоций и восприятие эмоций методики CEDM и лингвистическими характеристиками речи детей.

***Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект № 22-45-02007).***

## ЭФФЕКТЫ ИНГАЛЯЦИЙ АРГОНОМ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС В МОДЕЛИ ФЕТАЛЬНОГО АЛКОГОЛЬНОГО СПЕКТРА НАРУШЕНИЙ

*Кабиольский И.А.*

*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва*

e-mail: [ilyakab1999@gmail.com](mailto:ilyakab1999@gmail.com)

**Ключевые слова:** аргон, поведение, пренатальная алкогольная интоксикация.

Известно, что инертный газ аргон обладает рядом физиологических эффектов. В работах, проводимых на культурах клеток и в моделях *in vivo*, показано, что аргон обладает нейропротективными и антиапоптотическими свойствами [2,4]. Механизм действия аргона связан с ингибированием активности и снижением плотности рецепторов врождённого иммунитета – TLR-2 и TLR-4, что в результате приводит к увеличению количества фосфорилированной ERK 1/2 киназы и снижению содержания фосфорилированного NF-κB. В результате аргон снижает содержание белка BAX, ускоряющего запрограммированную гибель клеток, и напротив, увеличивает содержание ингибитора апоптоза Bcl-2, что приводит к увеличению выживаемости нейронов [5].

Нарушение активности системы врождённого иммунитета, которое может приводить к избыточной гибели нейронов, характерно для некоторых психоэмоциональных расстройств. Такие изменения характерны и для фетального алкогольного спектра нарушений (ФАСН). Известно, что пренатальная алкоголизация плода может приводить к переключению микроглии на провоспалительный фенотип и увеличению экспрессии провоспалительных цитокинов у потомства, что приводит к снижению дофаминергических проекций в неокортексе [1]. Также известно, что повреждающий эффект алкоголя на нервную систему связан с активацией TLR-4, -3, -2 и -7 [3]. Нами было выдвинуто предположение о возможности применения аргона с целью коррекции последствий пренатального воздействия алкоголя.

Исследование проводили на потомстве (n=74) от 8 самок крыс стока Wistar. Пренатально алкоголизированное (ПА) потомство получали путём спаивания половины самок раствором этанола (10%) в течение всего срока беременности. Далее интактное и ПА потомство разделяли на группы, которые подвергали ингаляциям аргон-кислородной (74%/21%) либо азот-кислородной смесью (O<sub>2</sub> – 21%) с 6 по 15 постнатальный день (ПНД). У потомства оценивали развитие ориентировочных рефлексов и становление реакции поворота со спины (4-6 ПНД). В период проведения ингаляций оценивали вестибуло-моторные реакции в тестах «отрицательный геотаксис» и «выход из круга» (8, 10, 12 и 14 ПНД). Далее оценивали у потомства: локомоторную и ориентировочно-исследовательскую активность в тесте «Открытое поле» («ОП» - 21 ПНД), уровень тревожности – «Приподнятый крестообразный лабиринт» («ПКЛ» - 25 ПНД), способность к обучению в сложном пищевом лабиринте «СПЛ» на фоне пищевой депривации (45-49 ПНД). При статистической обработке результатов применяли метод Three-way ANOVA, проводя анализ следующих факторов: «Газ» (N<sub>2</sub>/Ar), «Модель» (Интактные/ПА), «Пол» (Самцы/Самки). Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Пренатальная алкоголизация привела к статистически значимому снижению массы тела у потомства, а также снижению активности проявления ориентировочных рефлексов и увеличению времени переворота со спины на уровне тенденции, что характерно для модели ФАСН на грызунах. Ингаляции аргоном привели к значимому увеличению доли животных,

успешно выполняющих реакцию в тесте «отрицательный геотаксис» (10 ПНД). Было показано снижение времени выхода из круга на уровне тенденции (14 ПНД). У ПА животных также отмечено снижение ориентировочно-исследовательской активности в тестах «ОП» и «ПКЛ». В тесте «СПЛ» выявлены отставленные эффекты аргона: статистически значимо снижено количество ошибок, время выполнения реакции, а также количество стоек у животных в последний день тестирования. Эти результаты свидетельствуют об улучшении способности к обучению у крыс, дышавших аргоном в раннем постнатальном периоде.

Список литературы:

1. Komada M. et al. Mechanisms underlying neuro-inflammation and neurodevelopmental toxicity in the mouse neocortex following prenatal exposure to ethanol //Scientific reports. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 4934.
2. Loetscher P. D. et al. Argon: neuroprotection in in vitro models of cerebral ischemia and traumatic brain injury //Critical care. – 2009. – Т. 13. – С. 1-9.
3. Pascual M. et al. Toll-like receptors in neuroinflammation, neurodegeneration, and alcohol-induced brain damage //IUBMB life. – 2021. – Т. 73. – №. 7. – С. 900-915.
4. Ryang Y. M. et al. Neuroprotective effects of argon in an in vivo model of transient middle cerebral artery occlusion in rats //Critical care medicine. – 2011. – Т. 39. – №. 6. – С. 1448-1453.
5. Scheid S. et al. Argon preconditioning protects neuronal cells with a Toll-like receptor-mediated effect //Neural Regeneration Research. – 2023. – Т. 18. – №. 6. – С. 1371-1377.

## АНАЛИЗ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ, ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ ОТ СРЕДНЕГО МОЗГА ДВУХ ПАЦИЕНТОВ И СО СКАЛЬПА ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ В ОТВЕТ НА ЛЕКСИЧЕСКИЕ СТИМУЛЫ

*Канцеров А.О.<sup>1</sup>, Окнина Л.Б.<sup>1</sup>, Подлепич В.В.<sup>2</sup>, Вологодина Я.О.<sup>1,2</sup>,  
Зибер И.А.<sup>3</sup>, Пицхелаури Д.И.<sup>2</sup>*

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

*2 ФГАУ “Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко” Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия*

*3 ФГАОУ ВО “Национальный исследовательский университет “Высшая школа экономики”,  
Москва, Россия*

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

**Ключевые слова:** средний мозг; слуховые вызванные потенциалы; потенциал, следующий за частотой; FFR; лексические стимулы.

Одним из неинвазивных способов оценки функциональной сохранности глубинных структур, участвующих в слуховом восприятии в целом и речи в частности, являются потенциалы, следующие за частотой (англ. frequency following response, FFR). Однако на данный момент недостаточно информации о соответствии FFR, регистрируемых со скальпа, и вызванных потенциалов (ВП), записанных непосредственно от среднего мозга.

В настоящей работе ставится цель выявить компоненты глубинных ВП у пациентов, появляющиеся во время звучания гласных звуков, и сопоставить их с результатами анализа FFR, зарегистрированными со скальпа у здоровых добровольцев.

60

В исследовании участвовали 2 пациента мужского пола возрастом 42 и 52 года и 29 здоровых добровольцев в возрасте  $28 \pm 10$  лет (23 женщины и 6 мужчин). Пациенты проходили хирургическое лечение доброкачественных новообразований четвёртого желудочка в МНИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко МЗ РФ. Исследование одобрено этическим комитетом ФГАУ НМИЦ нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко Минздрава России (Москва) (протокол №1/2016).

Запись биопотенциалов пациентов проводилась на электроэнцефалографе фирмы «Нейрософт» (Россия) с помощью глубинного электрода с тремя кольцевыми электродами-контактами. Частота дискретизации 10 000 Гц, фильтры 0,01-4 000 Гц, режекторный фильтр 50 Гц. Регистрация потенциалов у здоровых добровольцев осуществлялась на энцефалографе фирмы Нейроботикс (Россия) от 32 электродов, размещающихся на поверхности головы по системе 10-10%. Использовались фильтры 0,01-500 Гц, а также режекторный фильтр 50 Гц. Частота дискретизации 2 000 Гц.

Стимульную последовательность и пациентам, и добровольцам предъявляли бинаурально, через накладные наушники, при помощи программы «Presentation» Neurobehavioral Systems, Inc. (USA). Для этого использовали акустический стимулятор AStim («Медицинские компьютерные системы», Россия). Звуковая последовательность включала гласные «а», «и», «о», «э», «у», «ы». Длительность стимулов 390 мс. Межстимульный интервал  $700 \text{ мс} \pm 70 \text{ мс}$ . Каждый стимул в последовательности повторялся 40 раз псевдослучайно.

К анализу принимались безартефактные участки записи. Для выделения FFR проводили фильтрацию 80-500 Гц и усреднение ВП отдельно по каждому стимулу. ВП включали предстимульный (100 мс) и постстимульный (800 мс) интервалы. Для добровольцев рассчитывали grand mean ВП отдельно по каждому гласному.

На полученных ВП рассчитывались разности между латентностями групп коротколатентных пиков (ГКП) отдельно для каждого пациента. Также вычислялась разница во времени между амплитудными максимумами стимула, которая соответствовала периоду основного тона гласного звука. Затем выборки этих разностей сравнивались между собой по критерию Краскела-Уоллиса отдельно по каждому гласному. За латентность ГКП принималась латентность первого из пиков, как правило имеющего наибольшую амплитуду среди всех пиков ГКП. Далее проводилось сравнение ГКП на глубинных и скальповых ВП.

У пациентов на глубинных ВП в ответ на гласные звуки были выявлены несколько ГКП, появившихся в течение звучания стимулов. Первая из них возникала через  $7,6 \pm 0,7$  мс (для пациента 1) и  $9,8 \pm 0,7$  мс (для пациента 2) после начала звучания. Данная ГКП пиков появлялась также на глубинных ВП в ответ на простые тоны и отражала проведение нервного импульса по слуховым структурам среднего мозга.

Вслед за первой ГКП следовали другие ГКП. Временные промежутки между соседними ГКП на ВП в ответ на один и тот же гласный звук у обоих пациентов и между амплитудными максимумами осциллограмм стимулов не имели статистически достоверных различий ( $p > 0,05$ ). Однако между ответами на различные гласные выборки статистически достоверно различались ( $p > 0,05$ ). Эти данные говорят в пользу того, что ГКП появляются в ответ на амплитудные максимумы в звучании гласных звуков, частота появления которых соответствует частоте звучания основного тона гласного звука.

На grand mean скальповых ВП добровольцев, являющихся аналогами FFR, также появлялись ГКП с частотой основного тона гласного. Однако частота появления пиков внутри ГКП была выше, чем на глубинных ВП, и отражала все звуковые колебания стимулов. Это указывает на то, что источниками зарегистрированных в данной работе скальповых FFR могут являться не только структуры среднего мозга.

61 На скальповых и глубинных ВП в ответ на гласные звуки выявляются ГКП, следующие за амплитудными максимумами звукового стимула с частотой основного тона гласного звука.

ГКП на скальповых и на глубинных ВП отличаются, из чего следует, что источниками зарегистрированных в данной работе скальповых FFR могут являться не только структуры среднего мозга.

# ЭКСПРЕССИЯ ЦИТОКИНОВ В ГИППОКАМПЕ И КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В ЛИТИЙ-ПИЛОКАРПИНОВОЙ МОДЕЛИ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОГО СТАТУСА И РОЛЬ МОДУЛЯЦИИ ЭНДОКАННАБИНОИДНОЙ СИСТЕМЫ

Сулейманова Е.М., Карань А.А., Борисова М.А., Волобуева М.Н., Большаков А.П.

ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
e-mail: akartar.n@gmail.com

**Ключевые слова:** Эпилепсия, нейровоспаление, пилокарпин, эндоканнабиноидная система.

Согласно определению Международной Антиэпилептической Лиги (ILAE), эпилепсия - это «хроническое состояние мозга, которое характеризуется устойчивой предрасположенностью к возникновению эпилептических приступов и нейробиологическими, когнитивными, психологическими и социальными последствиями». Данное определение носит общий характер, но за ним скрывается множество состояний, и этиология, и симптоматика, и механизмы эпилептогенеза которых могут значительно отличаться, что затрудняет создание единой модели заболевания. Для преодоления данного препятствия в рамках моделирования осуществляется выбор конкретного типа эпилепсии и его проявления(-ий): электрофизиологического, морфологического (в основном нейродегенерации) и поведенческого [1]. В данной работе используется модель эпилептического статуса с внутривентрикулярным введением пилокарпина, где воспроизводятся аспекты электрофизиологической активности и нейродегенерации. Воспроизведение сразу двух аспектов сближает пилокарпиновую модель именно с заболеванием под названием “эпилепсия”.

62 Одним из нейробиологических процессов, связанных с хроническим состоянием мозга, характеризующимся устойчивой предрасположенностью к возникновению эпилептических приступов, в настоящее время считается нейровоспаление. Нейровоспаление – это реакция центральной нервной системы (ЦНС) на различные нарушения, такие как инсульт, травма, инфекция, аутоиммунные заболевания, стресс и повышенная возбудимость нейронной сети, например, во время эпилептических судорог. Такая реакция включает в себя биосинтез и высвобождение молекул с воспалительными свойствами клетками мозга, в основном активированной микроглией и астроцитами, а также нейронами и клетками сосудистой сети мозга [2].

В настоящее время в рамках исследования нейровоспаления, характерного для многих патологических состояний, рассматривается, в частности, влияние на него эндоканнабиноидной системы (ЭКС) [3], однако, в исследованиях, посвященных эпилепсии, основное внимание сосредоточено на том, как модуляция ЭКС влияет на сетевую нейрональную активность за счет изменения работы синапсов (возбуждающих и тормозных) через СВ1 рецепторы, а связи с нейровоспалением посвящено лишь небольшое количество исследований [4].

В нашем исследовании мы анализировали динамику нейровоспаления после введения пилокарпина и влияния на эту динамику антагониста СВ1 эндоканнабиноидных рецепторов. Нейровоспаление оценивали по уровням экспрессии провоспалительного цитокина *Il1b*, *Il6* и противовоспалительного цитокина *Cx3cl1* в дорсальном и вентральном гиппокампах, энторинальной, фронтальной и соматосенсорной корках. Экспрессию оценивали с помощью количественной ПЦР через 24 часа, 7 дней и 5 месяцев после инъекции конвульсанта. Мы результаты мы получили, что: 1) в неокортексе рос уровень мРНК *Il1b* и *Cnr1* и снижалась экспрессия *Cx3cl1*, в то время как в гиппокампе в исследуемые сроки после эпилептического статуса (ЭС) изменялась только экспрессия *Il1b*. Наиболее стойкое снижение экспрессии *Cx3cl1* обнаружено в энторинальной коре; 2) ингибирование СВ1-рецепторов в ранние сроки после ЭС

оказывало транзиторный нейропротекторный эффект, не проявляющийся в хроническом периоде и не препятствующий развитию спонтанных приступов после ЭС; (3) ингибирование рецепторов СВ1 предотвращало повышение экспрессии *IL6* в хроническом периоде после СЭ.

***Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект №. 20-015-00468.***

Список литературы:

1. Engel J. Jr, International League Against Epilepsy (ILAE). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology // *Epilepsia*. 2001. Vol. 42, № 6. P. 796–803.
2. Vezzani A. et al. Interleukin-1beta immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures // *J. Neurosci*. 1999. Vol. 19, № 12. P. 5054–5065.
3. Walter L., Stella N. Cannabinoids and neuroinflammation // *Br. J. Pharmacol*. 2004. Vol. 141, № 5. P. 775–785.
4. Cheung K.A.K. et al. The Interplay between the Endocannabinoid System, Epilepsy and Cannabinoids // *Int. J. Mol. Sci*. 2019. Vol. 20, № 23.

## ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ НА ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ У ДРОЗОФИЛЫ В УСЛОВИЯХ ОТСУТСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ КИНУРЕНИНОВОГО ПУТИ ОБМЕНА ТРИПТОФАНА

Каровецкая Д.М.<sup>1,2</sup>, Медведева А.В.<sup>2</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: [dariaraddvs@gmail.com](mailto:dariaraddvs@gmail.com)

**Ключевые слова:** гипоксия, обучение, память, кинурениновый путь обмена триптофана.

На сегодняшний день одной из важнейших проблем биологии и медицины является понимание этиологии и патогенеза нейродегенеративных заболеваний (НДЗ). Несмотря на наличие генетической детерминанты, НДЗ зачастую носят спорадический характер и факторами их запуска могут являться различные воздействия внешней среды. Одним из наиболее распространенных повреждающих факторов является гипоксия, а повышенная чувствительность нервной ткани к данному воздействию позволяет сделать предположение о его возможной роли в запуске и дальнейшем развитии НДЗ. В связи с этим особый интерес представляет исследование влияния гипоксического воздействия на когнитивные процессы в условиях нарушения биохимических каскадов, вовлеченных в патогенез НДЗ. Многие неврологические заболевания сопровождаются изменением содержания продуктов кинуренинового пути обмена триптофана (КПОТ) (Журавлев и др., 2015).

Исследование проводили на пятисуточных самцах *Drosophila melanogaster* линии дикого типа *Canton-S (CS)* и мутантной линии *vermilion (v)*, которая характеризуется блокировкой первой ключевой стадии распада триптофана и отсутствием всех метаболитов КПОТ. Оценку способности к обучению и сформированности среднесрочной памяти (ССП) проводили в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания. Самцов, не имеющих опыта полового поведения, помещали в экспериментальную камеру вместе с оплодотворенной самкой линии дикого типа *CS* на 30 минут (тренировка). Далее проводили регистрацию этограммы и анализ длительности полового и неполового поведения (расчет индекса обучения (ИО)) в двух временных точках: сразу после тренировки (обучение) и спустя 3 часа (сформированность СПП). Гипобарическую гипоксию моделировали в барокамере проточного типа. Для каждой линии были проанализированы группы мух, тренировка которых проходила до, после и во время гипоксического воздействия, а также группа интактного контроля. Условия в барокамере соответствовали ранее разработанной модели (Медведева и др., 2020) и представляли из себя 30-ти минутное воздействие по следующей схеме:

1. 5 минут при концентрации  $O_2$  10% (360 мм.рт.ст.);
2. 5 минут при концентрации  $O_2$  5% (180 мм.рт.ст.);
3. 10 минут при концентрации  $O_2$  4% (140 мм.рт.ст.);
4. 10 минут при концентрации  $O_2$  3% (120 мм.рт.ст.).

Для статистической обработки данных использовали двусторонний тест рандомизации ( $p < 0,05$ ). Полученные результаты показали, что воздействие гипоксии во время тренировки и до нее не оказывает достоверного влияния на обучение и СПП мух линии дикого типа *CS*. В то же время, гипоксическое воздействие после тренировки приводит к достоверному снижению ИО сразу после обучения. Однако спустя 3 часа данный показатель возвращается в норму и становится неотличим от контроля, что говорит об отсутствии отклонений в формировании СПП. Для мутантной линии *v* характерно отсутствие достоверного ухудшения обучения и памяти в случае воздействия гипоксии после тренировки и в интактном контроле. Но при наличии гипоксии во



время тренировки и перед ней наблюдается снижение как обучения, так и уровня ССП. Это свидетельствует о том, что метаболиты КПОТ играют важную роль в реализации когнитивных процессов при действии гипоксии.

Список литературы:

1. Журавлев А.В., Никитина Е.А., Савватеева-Попова Е.В. // Успехи физиологических наук. 2015. Т. 46. С. 75-90.
2. Медведева А.В., Токмачева Е.В., Никитина Е.А. и др. // Медицинский академический журнал. 2020. Т. 20. № 4. С. 45-54.

# ОЦЕНКА СТАТИЧЕСКИХ И ДИНАМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОТОРНОГО КОМПОНЕНТА ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ МОТОРНЫХ И ДВОЙНЫХ ЗАДАЧ У ЗДОРОВЫХ ИСПЫТУЕМЫХ

Каширина М.А.<sup>1,2</sup>, Стрельникова Е.В.<sup>1</sup>, Окнина Л.Б.<sup>1</sup>

*1* ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва  
*2* ФГБУ Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии  
ФМБА РФ  
e-mail: [morbivite2@gmail.com](mailto:morbivite2@gmail.com)

**Ключевые слова:** статокинезиометрия, двойные задачи, постуральный баланс.

Одно из наиболее значимых приобретений человека в процессе эволюции - поддержание постурального баланса, для оценки которого служит метод статокинезиометрии, отражающий один из основных параметров – положение центра давления (ЦД). Поддержание постурального баланса при стоянии и ходьбе может происходить как автоматически, так и при концентрации внимания на движении. В повседневной жизни человеку очень часто приходится одновременно выполнять несколько задач, что предполагает распределение внимания между моторной и когнитивной задачами. Для оценки изменений статических и динамических показателей движения при разной степени концентрации внимания на движении могут быть использованы двойные задачи, включающие моторный и когнитивный компоненты.

Целью настоящего пилотного исследования была оценка статических и динамических показателей движения при выполнении моторной и двойной задачи у здоровых испытуемых.

66

Были поставлены следующие задачи:

1. Определить положение ЦД методом статокинезиометрии в положении стоя.
2. Определить смещение ЦД при выполнении моторной задачи и двойной задачи.
3. Проанализировать динамические показатели ходьбы.
4. Выявить изменения динамических показателей ходьбы при выполнении двойной задачи.

Исследуемая группа состояла из 9 здоровых человек (3 мужчин и 6 женщин), в возрасте от 25 до 51 ( $36 \pm 10$  лет). Всех испытуемых тестировали на стабиллоплатформе («Стабилан», Россия), 4 испытуемых дополнительно были исследованы на тренажере WalkBot, включающий комплекс беговой дорожки с системой рагрузки веса и автоматизированным электромотором (Корея).

При тестировании на стабиллоплатформе испытуемым предлагалось выполнить:

- тест Ромберга, служивший контролем начального уровня баланса;
- моторную задачу, заключающуюся в удержании баланса;
- двойную задачу, включающую удержание баланса и решение когнитивной задачи.

При тестировании на WalkBot испытуемым предлагалась:

- моторная задача, заключающаяся в ходьбе по дорожке;
- двойная задача, включающая ходьбу с одновременным выполнением когнитивной задачи.

При оценке статических показателей центральная часть стабиллометрической платформы принималась за ноль - центральное положение ЦД. Смещение право-лево оценивалось по оси X со значениями [-1; +1], смещение вперед-назад оценивалось по оси Y со значениями [-1; +1]. Фиксировались зоны положения ЦД при выполнении теста Ромберга и его отклонения при выполнении моторной и двойной задач.

При динамических показателях учитывали изменения фазы опоры и фазы переноса в цикле ходьбы левой и правой ноги. Скорость движения дорожки была 1,2 км/ч.

Во время выполнения тестов у испытуемых регистрировалась ЭЭГ. Перед исследованием все испытуемые проходили психологическое тестирование с акцентом на выявлении профиля межполушарной асимметрии.

В позе Ромберга центральное расположение ЦД отмечаено только у 2 человек. У остальных испытуемых ЦД был смещен (чаще кпереди и вправо). При выполнении моторной задачи отмечена центрация ЦД. При выполнении двойных задач ЦД имел тенденцию к возвращению на исходный уровень.т.е. чаще смещался вперед и вправо.

При сравнении динамических показателей выявлено удлинение фазы опоры и подчеркивание асимметричности ходьбы при выполнении двойной задачи по сравнению с моторной задачей.

Выявленная центрация ЦД при выполнении моторной задачи позволяет предположить усиление произвольного контроля поддержания постурального баланса. Возвращение ЦД на начальный уровень при выполнении двойной задачи, включающей моторный и когнитивный компоненты, может отражать преобладание автоматического (непроизвольного) контроля выполнения моторной задачи и смещение произвольного внимания к выполнению когнитивной задачи. Для уточнения нейрофизиологических механизмов данного предположения в дальнейшем планируется провести сопоставления полученных данных с параметрами анализа ЭЭГ и психологического тестирования.

## ОТРАЖЕНИЕ ЭМОЦИЙ ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ШКОЛЬНОГО И ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА В РЕЧИ И МИМИКЕ

*Клешнев Е.А.*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*  
[kleshnev.egor@gmail.com](mailto:kleshnev.egor@gmail.com)

**Ключевые слова:** эмоциональная речь, акустические характеристики, отражение эмоций.

Эмоция – активное состояние системы специализированных структур мозга, побуждающее организм к изменению поведенческой реакции в направлении минимизации или максимизации этого состояния. Способность эмоциональной саморегуляции детей младшего школьного возраста находится на стадии формирования, что обусловлено анатомическими и функциональными особенностями центральной нервной системы. У подростков созревают структуры лимбической системы и префронтальная кора, что улучшает их способность к контролю эмоциональных состояний. Цель исследования – сравнение способностей к отражению эмоций детей младшего школьного возраста и подростков.

Исследование проведено по методике Child's Emotional Development Method (CEDM). В исследовании приняли участие 2 группы детей: 10 детей (5 мальчиков, 5 девочек) в возрасте 7-8 лет и 12 детей 12-13 лет (5 девочки, 7 мальчиков). С целью изучения способности к отражению эмоций в голосе детей просили изобразить эмоциональные состояния (нейтральное, печаль, радость, гнев, страх) при произнесении эмоциональных слов, фраз и бессмысленных текстов. Запись речи проводили на магнитофон «Marantz PMD660» с выносным микрофоном «SENNHEIZER e835S». Спектрографический анализ речевого материала проводили в звуковом редакторе «Cool Edit Pro». Определяли значения частоты основного тона (ЧОТ), её минимальные, максимальные значения, интенсивность, считали вариативность ЧОТ. С целью изучения способности к отражению эмоций в мимике использовали программу FaceReader (Noldus). Анализировали видеотрекеры в ситуации диалог с экспериментатором (длительность 1 минута). Проводили проверку фонематического слуха, измеряли частоту сердечных сокращений (ЧСС) и определяли ведущее полушарие по речи методом дихотического прослушивания.

Выявлены возрастные особенности отражения эмоций в речи и мимике детей. Показана зависимость (корреляция по Спирмену,  $p < 0,05$ ) акустических характеристик эмоциональной речи - значений ЧОТ, её максимальных, минимальных значений и вариативности от возраста детей. Анализ мимической экспрессии показал большую степень выраженности эмоциональных состояний в мимике у детей младшего школьного возраста, чем у подростков. У детей младшего школьного возраста показана зависимость между физиологическими характеристиками (ЧСС, ведущее полушарие по речи) и отражением эмоциональных состояний. У детей подросткового возраста показана связь между ЧСС и акустическими характеристиками эмоциональной речи.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 22-45-02007).*

## ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ УРОВНЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ АРИФМЕТИЧЕСКИХ СПОСОБНОСТЕЙ

*Князева В.М., Ситникова Д.Д., Федоров Д.Г.<sup>1</sup>, Полякова Н.В., Александров А.А.*

*Санкт-Петербургский Государственный Университет  
e-mail: v.m.knyazeva@spbu.ru*

**Ключевые слова** арифметика, счетный навык, Н400, поздняя позитивная волна, задача верификации ответа.

Эффект Н400 представляет собой негативное отклонение в вызванных потенциалах мозга (ВП) человека, возникающее в ответ на нарушение смыслового контекста. Арифметический эффект Н400 обнаруживается при демонстрации неверного ответа на предъявленный арифметический пример (Niedeggen et al., 1999). Также в задаче арифметической верификации наблюдается генерация позднего позитивного компонента (ППК), связываемого с процессами памяти. Указанные компоненты ВП отражают процессы обработки и анализа семантического контекста, а также используемой стратегией решения примера, что находится в тесной связи со степенью сформированности счетного навыка. Таким образом, целью настоящего исследования было оценить зависимость параметров компонент Н400 и ППК от уровня счетных способностей испытуемого при выполнении задачи верификации ответа.

В исследовании приняли участие 24 человека в возрасте от 18 до 25 лет (13 женщин). По результатам подтеста на сложение Calculation Fluency Test (Sowinski et al., 2014) испытуемые с результатом ниже среднего значения были отнесены к группе со слабым счетным навыком (11 человек), с результатом выше – к группе с сильным счетным навыком (13 человек). В качестве стимулов предъявлялись арифметические примеры на сложение состоящие из двух однозначных чисел. Примеры результатом сложения операндов которых является число меньше 10 были обозначены как простые (32 примера, малая проблема), а примеры с результатом вычисления больше 10 - как сложные (32 примера, большая проблема). Ответ на предшествующий пример служил целевым стимулом и мог быть верным или неверным (с вероятностью 50%). Если демонстрировался неверный ответ, то диапазон девиации ошибки составлял  $\pm 1-3$ . Длительность предъявления ответа составляла 1000 мс. Для регистрации ЭЭГ использовался энцефалограф “Мицар-ЭЭГ-202”. Регистрация и обработка электроэнцефалограммы проводилась в программе WinEEG (ООО Мицар, Санкт-Петербург, Россия). В ходе анализа по каждому отведению были получены усредненные групповые ВП. Для дальнейшего анализа 30 отведений были разделены на 10 кластеров по 3 электрода в каждом. ВП внутри каждого кластера были усреднены. Для дальнейшего анализа была измерена усреднённая амплитуда ВП (от изолинии до пика) на временных интервалах  $\pm 25$  мс от максимумов отдельных пиков. Статистический анализ проводился с использованием метода дисперсионного анализа с повторными измерениями.

Полученные результаты демонстрируют наличие арифметического эффекта Н400 как в группе сильных, так и в группе слабых по счетному навыку испытуемых (значимое влияние фактора «Тип ответа»:  $F(1, 12) = 6.840$ ,  $p = 0.023$ ,  $F(1, 10) = 5.745$ ,  $p = 0.038$ , соответственно). Кроме того было обнаружено значимое взаимодействие факторов «Фронтальность» x «Латерализация» ( $F(2.22, 26.62) = 14.562$ ,  $p < 0.001$ ;  $F(2.20, 22.04) = 13.431$ ,  $p < 0.001$ ). Однако по результатам апостериорного анализа только группа испытуемых с сильным арифметическим навыком показывает наличие асимметрии ответа: было обнаружено увеличение амплитуды Н400 во фронтальных отведениях правого полушария ( $p = 0.039$ ). Полученный результат может быть связан с различиями в активации мозговых структур при выполнении задачи верификации

ответа: у людей с сильным счетным навыком при демонстрации арифметической ошибки активируется правая префронтальная кора (Ansari et al., 2011), что связывают с усиленным когнитивным контролем.

Компонент ППК также показывает различия для двух групп испытуемых. В группе испытуемых со слабым счетным навыком было обнаружено значимое взаимодействие факторов «Тип ответа» x «Размер проблемы» ( $F(1, 10) = 11.364$   $p = 0.007$ ): при предъявлении правильного ответа на пример БП амплитуда ВП достоверно больше по сравнению с примером МП ( $p = 0.004$ ). Полученные данные подтверждают связь амплитуды ППК с такими факторами как тренировка арифметического навыка и величина операндов: чем более развит арифметический навык и чем меньше размер операндов тем меньше амплитуда волны ППК (Núñez-Peña et al., 2004; Núñez-Peña, 2008).

*Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда, номер пректа 23-78-01220.*

Список литературы:

1. Ansari, D., Grabner, R. H., Koschutnig, K., Reishofer, G., Ebner, F. (2011). Individual differences in mathematical competence modulate brain responses to arithmetic errors: An fMRI study. *Learning and Individual Differences*, 21(6), 636–643.
2. Niedeggen, M., Rösler, F. (1999). N400 Effects Reflect Activation Spread During Retrieval of Arithmetic Facts. *Psychological Science*, 10(3), 271–276.
3. Núñez-Peña, M. I. (2008). Effects of training on the arithmetic problem-size effect: An event-related potential study. *Experimental Brain Research*, 190(1), 105–110.
4. Núñez-Peña, M. I., Honrubia-Serrano, M. L., Escera, C. (2004). Problem size effect in additions and subtractions: An event-related potential study. *Neuroscience Letters*, 373(1), 21–25.
5. Sowinski, C., Dunbar, K., LeFevre, J. (2014). Calculation Fluency Test. Carleton University.

## АНТИПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ЭФФЕКТ L1CAM-СПЕЦИФИЧНЫХ АПТАМЕРОВ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА

*Колесникова В.А.<sup>1</sup>, Митина А.К.<sup>2</sup>, Павлова Г.В.<sup>1,3,4</sup>*

<sup>1</sup> ФГБУН ИВНД и НФ РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО "РНИМУ им. Н.И. Пирогова" МЗ РФ, Москва, Россия

<sup>3</sup> НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко, Москва, Россия

Первый МГМУ имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

E-mail: [v.kolesnikova@ihna.ru](mailto:v.kolesnikova@ihna.ru)

**Ключевые слова:** глиобластома; аптамеры; антипролиферативный эффект; L1CAM.

Из опухолевых тканей глиобластомы IV Grade пациентов были получены культуры G01, Sus, Rozh, 40 глиобластомы человека (резекция была проведена в НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко). С помощью ПЦР-РВ оценивалась экспрессия гена *L1CAM* в полученных культурах. С помощью иммуномагнитной сепарации из культуры с высокой экспрессией L1CAM были получены обогащенная и обедненная по этому маркеру культуры G01 L1CAM<sup>+</sup> и G01 L1CAM<sup>-</sup>. На 10<sup>й</sup> день после начала эксперимента с помощью МТТ-теста была оценена эффективность ингибирующего пролиферацию воздействия панели аптамеров на исследуемые клеточные культуры глиобластомы человека. С помощью аптоцитохимического окрашивания клеток G01 L1CAM<sup>+</sup> и G01 L1CAM<sup>-</sup> показано связывание антител против L1CAM и аптамера к L1CAM.

71 По данным ПЦР-РВ наибольшей экспрессией L1CAM обладала культура G01, в качестве культуры с низкой экспрессией была выбрана Sus. По результатам МТТ-теста культура Sus оказалась более чувствительной к однократному добавлению аптамеров к L1CAM. Так как увеличение концентрации не показало изменение ингибирующего эффекта, для дальнейшей работы была выбрана рабочая концентрация аптамеров 10 мкМ. На культурах G01 L1CAM<sup>+</sup> и G01 L1CAM<sup>-</sup> при однократном воздействии не наблюдалось ожидаемого эффекта снижения пролиферации L1CAM-позитивных клеток, обладающих стволовыми характеристиками, так что была испытана схема с трехкратным добавлением аптамеров к этим клеткам. При трехкратном воздействии на клетки G01 L1CAM<sup>+</sup> снижение пролиферации вызвали все исследованные аптамеры. Аптамер yIQ3 снижал пролиферацию клеток и G01 L1CAM<sup>+</sup>, и G01 L1CAM<sup>-</sup>, поэтому был исключен как неспецифичный. Аптамеры yly4, yly10, yly11 также оказывали эффект на клетки Sus с низкой экспрессией L1CAM. Таким образом, из снижавших пролиферацию клеток аптамеров при трехкратном воздействии был выбран аптамер yly12, для которого была показана специфичность связывания с G01 L1CAM<sup>+</sup> клетками.

Полученные результаты говорят о том, что аптамеры к L1CAM могут снижать пролиферацию клеточных культур глиобластомы человека, экспрессирующих L1CAM. Для проявления ингибирующего эффекта необходимо неоднократное воздействие аптамеров на клетки таких культур.

*Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки № 075-15-2021-1343.*

## ПОСЛЕДСТВИЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНА *Chat* В НЕЙРОНАХ МЕДИАЛЬНОГО СЕПТАЛЬНОГО ЯДРА У МЫШЕЙ C57BL/6

*Корягина А.А.<sup>1</sup>, Недогреева О.А.<sup>1</sup>, Спивак Ю.С.<sup>1</sup>, Белецкий А.П.<sup>1</sup>,  
Большаков А.П.<sup>1</sup>, Дашиинимаев Э.Б.<sup>2</sup>, Гуляева Н.В.<sup>1</sup>, Степаничев М.Ю.<sup>1</sup>*

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

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биологии развития им. Н.Н. Кольцова РАН, Москва, Россия

E-mail: [koraljona3@gmail.com](mailto:koraljona3@gmail.com)

**Ключевые слова** Холинергические нейроны, холинацетилтрансфераза, CRISPR/Cas9, геномное редактирование.

Холинергические нейроны базальных ядер переднего мозга обладают способностью синтезировать два классических медиатора: ацетилхолин и гамма-аминомасляную кислоту, что затрудняет исследование роли каждого из медиаторов в функционировании мозга. Для более точного определения роли холинергических нейронов в том или ином процессе была предпринята попытка инактивации синтеза ацетилхолина путем создания генного нокдауна с помощью метода геномного редактирования на основе CRISPR-Cas9 в клетках медиального септума. Такой подход в отличие от общепринятых позволяет сохранить структуру и функциональные свойства самих клеток.

Для нашей работы были созданы 4 типа векторов на основе рекомбинантных аденоассоциированных вирусов (ААВ, серотип 9), 3 из которых обеспечивали экспрессию CRISPR-Cas9 и гидовых РНК, необходимые для внесения мутации в ген, кодирующий холинацетилтрансферазу (ХАТ), а четвертый нес контрольную гидовую РНК. Указанные векторы стереотаксически вводили в область медиального септума мозга самцов мышей линии C57BL/6. Через 2 или 6 недель после введения вирусных векторов проводили исследования поведения (тесты на активность, тревожность, когнитивные функции). В образцах ткани мозга, полученных после окончания исследования поведения, проводили анализ активности ферментов ХАТ и ацетилхолинэстеразы (АХЭ). Из ткани медиальной перегородки выделяли геномную ДНК или кДНК и проводили детекцию делеций в гене *Chat* с помощью таргетного NGS секвенирования. Также был проведен иммуногистохимический анализ колокализации генетического маркера вирусных векторов (gfp) и маркеров холинергических нейронов (ХАТ, рецептор p75).

По данным таргетного NGS секвенирования 0,42% ридов имели делецию в целевой области генома на временной точке 2 недели при анализе геномной ДНК, выделенной из медиального септума. При этом на временной точке 6 недель было обнаружено 0,8% ридов с целевой делецией при анализе мРНК транскриптов ХАТ, выделенных из медиального септума. Эти данные свидетельствуют о том, что, по крайней мере, часть клеток содержала отредактированный ген и проведенные манипуляции не сопровождались выраженной гибелью нейронов. Анализ поведения мышей не выявил существенных изменений поведения у мышей после опосредованного CRISPR-Cas9 редактирования ни через 2, ни через 6 недель после введения векторов в область медиального септума. При этом через 2 нед. после инъекции векторов наблюдалось значимое снижение активности ХАТ в гиппокампе, которое не обнаруживалось через 6 нед. после воздействия. Вероятно, это связано с развитием компенсаторных изменений в ответ на нарушения холинергической трансмиссии. Для проверки предположения о том, что компенсация холинергического дефицита может быть связана с появлением (дифференцировкой) холинергических нейронов в гиппокампе, мы выполнили эксперименты, в которых векторы с Cas9 и гидовыми РНК вводили непосредственно в гиппокамп. Измерения активности АХЭ после экспрессии указанных векторов не выявили значимых изменений, указывая на то, что компенсаторные явления не являются результатом экспрессии ХАТ в гиппокампальных нейронах.



## ОТДАЛЁННЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ У КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ ЛИНИИ SHR

*Кострюков П.А.<sup>1</sup>, Комольцев И.Г.<sup>1,2</sup>, Баикатова Д.А.<sup>1</sup>, Костюнина О.В.<sup>1</sup>, Шальнева Д.В.<sup>1</sup>,  
Балан С.И.<sup>1,2</sup>, Беликова А.А.<sup>1,2</sup>, Соловьёва А.С.<sup>1</sup>, Новикова М.Р.<sup>1</sup>, Гуляева Н.В.<sup>1,2</sup>*

*1 - Лаборатория функциональной биохимии нервной системы, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия*

*2 - ГБУЗ «Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьёва»  
Департамента здравоохранения г. Москвы, Россия  
e-mail: pavelkostrukov075@gmail.com*

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, глюкокортикоиды, артериальная гипертензия, нейровоспаление, нейродегенерация, гиппокамп.

73

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) - одна из главных причин смертности, инвалидизации и развития неврологического дефицита среди людей разного возраста. К отдаленным последствиям ЧМТ относят депрессивные расстройства, когнитивные нарушения и посттравматическую эпилепсию. Одной из наиболее уязвимых к различным повреждающим факторам, в том числе ЧМТ, структур мозга является гиппокамп. В позднем посттравматическом периоде ряд патологических процессов, таких как нейровоспаление и нейродегенерация в гиппокампе, приводят к уменьшению в нем числа нейронов, глиозу и развитию посттравматических нарушений (Komoltsev, Gulyaeva, 2022). Опосредованные глюкокортикоидами длительные изменения нейронных сетей в гиппокампе после травмы мозга участвуют в развитии посттравматической патологии, а на клеточном уровне провоспалительный эффект ЧМТ может быть усилен на фоне повышенного уровня. Для изучения механизмов осложнений ЧМТ была использована линия крыс со спонтанной гипертензией (SHR), которая, помимо повышенного артериального давления, характеризуется и высоким базальным уровнем кортикостерона (КС). Исходя из особенностей линии SHR, можно было предположить, что посттравматические нарушения у них будут более выражены в сравнении с животными с более низким базальным уровнем КС. Эта первая часть сравнительного исследования, в которой изучены эффекты ЧМТ на крысах SHR.

Работа выполнена на 25 самцах крыс линии SHR. 10 – ложнооперированные (ЛО); 15 – с черепно-мозговой травмой (ЧМТ). До проведения эксперимента животных приучали к рукам. В течение 7 дней до нанесения травмы проводили забор крови из хвостовой вены для определения фонового уровня КС и измеряли фоновое артериальное давление и пульс. Для нанесения ЧМТ использовали метод латерального гидродинамического удара (2,54±0,05 атм.). В течение 3-х месяцев после ЧМТ для определения уровня КС осуществляли забор крови с параллельным измерением артериального давления и пульса. К концу 3-го месяца с животными проводили поведенческие тесты: открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, тест Барнес и тест на распознавание старого и нового объектов. В конце эксперимента производили кардиоперфузию, извлекали мозг и проводили гистологические исследования, в которых измеряли толщину слоев коры и гиппокампа, а также подсчитывали число нейронов и клеток астроглии в областях CA1, CA3 и DG гиппокампа.

Смертность крыс SHR в течение 3-х мес. после ЧМТ составляет 0%, хотя ранее нами было показано, что этот параметр у нормотензивных крыс Sprague-Dawley составляет 50%. Установлено, что ЧМТ у крыс линии SHR приводит к ухудшению обучения в тесте Барнес на фоне истончения неокортекса в зоне повреждения и изменений в ипсилатеральном гиппокампе:

уменьшения плотности нейронов в полиморфном слое зубчатой извилины и истончения пирамидного слоя. Исходно повышенный фоновый уровень КС у крыс SHR возрастает в результате операции, а также с возрастом, и не усиливается под влиянием ЧМТ. Операция вызывает перераспределение плотности астроцитов в гиппокампе, ипсилатеральном краниотомии. ЧМТ и ложная операция не влияют на артериальное давление, и не влияют на рабочую память и уровень тревожности в тестах распознавания объектов, открытом поле, приподнятом крестообразном лабиринте. Высокий уровень КС сопровождается большей подвижностью крыс, ухудшением выполнения теста на рабочую память и коррелирует с увеличением плотности астроцитов в ипсилатеральном, и уменьшением – в контралатеральном гиппокампе. Исходно более низкий уровень КС ассоциирован с истончением пирамидного слоя ипсилатерального гиппокампа и развитием признаков тревожного поведения спустя 3 месяца после операции.

С учетом результатов предыдущих исследований на данном этапе работы можно предположить, что крысы линии SHR на фоне повышенного уровня КС после ЧМТ могут быть хорошо адаптированы к КС-зависимым последствиям травмы, таким как летальный исход и, возможно, билатеральное дистантное повреждение гиппокампа. Продолжение исследования по использованному протоколу сможет подтвердить или опровергнуть эту гипотезу.

Список литературы:

1. Komoltsev I. G., Gulyaeva N. V. Brain Trauma, Glucocorticoids and Neuroinflammation: Dangerous Liaisons for the Hippocampus // *Biomedicines*. 2022. Т. 10. № 5. С. 1139.

## ЛИПИДНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕГИОНОВ СЕРОГО И БЕЛОГО ВЕЩЕСТВА МОЗГА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ШИЗОФРЕНИЕЙ

Маклак А. Н.<sup>1\*</sup>, Осетрова М.С.<sup>2</sup>, Ефимова О. И.<sup>2</sup>, Сенько Д.А.<sup>2</sup>, Стекольников Е.А.<sup>2</sup>, Хайтович Ф. Е.<sup>2</sup>

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

*2 Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия*

*\*e-mail: lesya.maklak.98@mail.ru*

**Ключевые слова** липидные изменения; шизофрения; пол.

Согласно статистическим данным, шизофренией в мире страдает 0,3% населения [1], при этом было показано, что наследственный вклад в заболевание невелик. Интерес к изучению роли липидов при шизофрении возник в связи с их большой долей в сухом веществе мозга (50-60%) [2], а также постоянством большей части липидного состава нервной ткани в течение жизни, т. е. ее изменение может служить маркером заболеваний.

Целью нашей работы было выявление маркеров шизофрении в изменении липидного состава регионов серого и белого вещества мозга. Дополнительно была проанализирована связь липидных изменений, ассоциированных с болезнью и полом.

Мы анализировали постмортальный липидный профиль мозга 12 больных шизофренией доноров (6 ж, ср. возраст 59±5 лет; 6 м, ср. возраст 50±14 лет), диагноз которым был поставлен при жизни, и 12 здоровых доноров (7 ж, ср. возраст 58±14 лет; 5 м, ср. возраст 44±15 лет), которые не страдали психическими расстройствами. Для каждого донора анализировались 4 региона мозга, из них 2 региона серого вещества (9 и 22 поля по Бродману) и 2 региона белого вещества (передняя и задняя части мозолистого тела), т. е. в анализ вошло 96 образцов.

Из образцов указанных регионов мозга были выделены липиды посредством двухфазной экстракции с дальнейшим применением масс-спектрометрического анализа. Было идентифицировано 432 липида, которые составили 26 липидных классов. Нормализация и анализ данных проводились в программном пакете R.

Метод главных компонент выявил статистически значимое различие в распределении липидов между больными и здоровыми донорами по второй главной компоненте. Наибольшее различие показал один из регионов серого вещества, а именно, поле 9 по Бродману. Количество значимо отличающихся липидов по однофакторному дисперсионному анализу ANOVA по фактору болезни составляет 6-45 липидов, в зависимости от региона, без поправки на множественное сравнение, с поправкой – 2 липида на уровне среднего показателя по этим регионам. Изменения по фактору болезни в регионах белого вещества лучше коррелируют как между собой, так и с изменениями этих же липидов в регионах серого вещества, что может свидетельствовать о наибольшей выраженности в регионах белого вещества изменений, характерных и для других регионов мозга. У больных шизофренией доноров на основании гипергеометрического теста было показано значимое преобладание глицерофосфолипидов среди изменившихся классов, жирных кислот среди повышенных (белое вещество), N-ацил-этанолламинов среди пониженных (задняя часть мозолистого тела) классов.

Поскольку выборка сбалансирована по полу, мы оценили взаимодействие факторов пол и болезнь. На основании теста Фишера было показано: у больных и здоровых в большей степени отличаются те же самые липиды, что отличаются у мужчин и женщин, при этом при шизофрении различия в уровне липидов мужчин и женщин снижаются. По фактору болезни у здоровых и больных мужчин отличается уровень большего количества липидов относительно здоровых и больных женщин.

Наблюдаемый эффект пола здоровых доноров положительно коррелирует с литературными данными по липидным изменениям по фактору пола регионов мозга мышей [3] и отрицательно коррелирует по таким изменениям для больных доноров.

Таким образом, настоящее исследование позволило выявить тренд на изменение определенных классов липидов при шизофрении, что может приводить к изменению текучести мембран и нарушению высвобождения нейромедиаторов при заболевании. Также была обозначена связь изменений с фактором пола, что может соотноситься с гипотезой о вовлеченности половых гормонов (в частности, эстрогена) в патогенез шизофрении.

1. Сайт Всемирной организации здравоохранения // URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders#:~:text=%D0%A8%D0%B8%D0%B7%D0%BE%D1%84%D1%80%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F,%E2%80%9320%D0%BB%D0%B5%D1%82%20\(4\).](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders#:~:text=%D0%A8%D0%B8%D0%B7%D0%BE%D1%84%D1%80%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F,%E2%80%9320%D0%BB%D0%B5%D1%82%20(4).) (дата обращения 03.10)
2. Hussain G, Anwar H, Rasul A, Imran A, Qasim M, Zafar S, Imran M, Kamran SKS, Aziz N, Razzaq A, Ahmad W, Shabbir A, Iqbal J, Baig SM, Ali M, Gonzalez de Aguilar JL, Sun T, Muhammad A, Muhammad Umair A. Lipids as biomarkers of brain disorders. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2020;60(3):351-374. doi: 10.1080/10408398.2018.1529653. Epub 2019 Jan 7. PMID: 30614244.
3. Ding J, Ji J, Rabow Z, Shen T, Folz J, Brydges CR, Fan S, Lu X, Mehta S, Showalter MR, Zhang Y, Araiza R, Bower LR, Lloyd KCK, Fiehn O. A metabolome atlas of the aging mouse brain. *Nat Commun.* 2021 Oct 15;12(1):6021. doi: 10.1038/s41467-021-26310-y. PMID: 34654818; PMCID: PMC8519999.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИЗОЛЯЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ, ОБУЧЕНИЕ И ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ПАМЯТЬ У СТАРЕЮЩИХ КРЫС ЛИНИЙ WKY И SHR

*Мамедова Д.И.\*, Недогреева О.А., Овчинникова В.А., Лазарева Н.А., Новикова М.Р.,  
Гуляева Н.В., Степаничев М.Ю.*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва, Россия  
\*e-mail: [mamedova.diana@ihna.ru](mailto:mamedova.diana@ihna.ru)*

**Ключевые слова:** социальная изоляция, старение, стресс, обучение и память.

Старение сопровождается многими изменениями в головном мозге и способствует прогрессирующему снижению когнитивных функций. Хронический стресс является важным фактором, способствующим усилению патологических процессов в старшей возрастной группе. У человека хронический изоляционный стресс при старении вызывает серьезные нарушения физического и психического здоровья, однако вопрос вызывает ли социальная изоляция стареющих животных сходные нарушения поведения и когнитивных процессов остается мало изученным.

Было исследовано влияние хронической изоляции в течение 3 мес у стареющих крыс линий WKY и SHR. В работе использовали самцов возрастом 10 мес в начале эксперимента. В течение периода изоляции животных индивидуально содержали в непрозрачных клетках. Контрольные группы крыс содержали по 2-3 особи в прозрачных клетках. В эксперименте задействовали 4 группы животных: WKYсоц (n=9), WKYизо (n=8), SHRсоц (n=16), SHRизо (n=11).

77 При помощи батареи тестов было исследовано влияние хронической изоляции на показатели поведения. В тесте «Открытое поле» крысы линии SHR демонстрировали более высокую горизонтальную и вертикальную активность, а также большее число стоек, чем крысы линии WKY. Крысы линии WKY медленнее выходили из центра арены сразу после посадки и реже выходили в центр арены в течение теста по сравнению с крысами SHR. В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдалась аналогичная картина: крысы линии SHR демонстрировали более высокую двигательную активность, чаще посещали открытые рукава и быстрее уходили из центра после посадки, чем крысы линии WKY. Более высокий уровень двигательной активности у животных линии SHR часто интерпретируют, как схожее с поведением при СДВГ, а сниженную активность крыс линии WKY, как склонность к депрессивно-подобному поведению. Между социальными и изолированными группами крыс разных генотипов значимых различий выявлено не было. При помощи теста «Предпочтение раствора сахарозы» оценили уровень ангедонии у животных разных групп. Крысы линии WKY потребляли меньшее количество раствора сахарозы и меньше предпочитали сладкий раствор в ситуации выбора по сравнению с крысами линии SHR, что также может свидетельствовать о преобладании депрессивно-подобного поведения у крыс линии WKY. Для исследования показателей социального взаимодействия был использован трех-камерный тест. У крыс разных групп время обследования незнакомой особи не отличалось. Разницы в предпочтении знакомой или новой особи также не было выявлено.

Влияние хронической изоляции на процессы обучения и памяти было исследовано в лабиринте Барнс. В ходе обучения (5 дней по 2 попытки) поиску убежища все группы демонстрировали снижение латентного периода (ЛП), однако к концу этого этапа у изолированных групп (WKYизо и SHRизо) ЛП поиска убежища был выше, чем у контрольных (WKYсоц и SHRсоц). Сохранность памятного следа проверяли в тестовой попытке через 24 ч после окончания обучения. Крысы группы WKYизо не могли дифференцировать целевой и противоположный

отсеки, а крысы группы SHRизо проводили больше времени в противоположном целевому секторе, что показывает отсутствие запоминания места расположения убежища. Таким образом, тестовая попытка оказалась сложной задачей, в особенности для группы SHRизо, у которых наблюдалась перверсия пространственной памяти. В ходе переучивания (3 дня по 2 попытки) снижение ЛП наблюдалось во всех экспериментальных группах. Во второй тестовой попытке была выявлена существенная разница в поведении между крысами WKY и SHR. У крыс WKY пройденная дистанция и время в целевом отсеке были выше, чем у крыс SHR. При этом группа SHRизо снова проводила в противоположном целевому отсеке значительно больше времени. У группы SHRсоц такого эффекта не было. Таким образом, у крыс SHR наблюдалось снижение когнитивной гибкости. Этот эффект был более выражен у изолированных крыс. В ходе обучения уменьшение числа ошибок рабочей памяти происходило в группах WKYсоц, WKYизо и SHRсоц. В группе SHRизо число ошибок практически не менялось. Однако в ходе переучивания наиболее выраженное снижение числа ошибок наблюдалось в группах WKYизо и SHRизо. Это может быть обусловлено тем, что число ошибок рабочей памяти в первый день переучивания был выше по сравнению с другими группами, хотя эта разница не была статистически значимой.

В ходе эксперимента удалось пронаблюдать разницу между линиями животных WKY и SHR. Различий психо-эмоционального состояния у социальных и изолированных групп выявлено не было. Однако наблюдалось влияние изоляции на процессы обучения и памяти. В целом крысы SHR обучались хуже и хуже удерживали информацию в памяти, а длительный социальный стресс приводил к усилению когнитивных нарушений.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №22-015-00132).*

# МУЛЬТИМОДАЛЬНОЕ АВТОМАТИЧЕСКОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ ЭМОЦИЙ ТИПИЧНО И АТИПИЧНО РАЗВИВАЮЩИХСЯ ДЕТЕЙ

*Матвеев А.Ю.*

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: aush.tx@gmail.com*

**Ключевые слова** эмоции, психоневрологическое развитие, машинное обучение.

Развитие систем автоматического распознавания эмоций детей, в том числе детей с атипичным развитием, таких как синдром Дауна (СД) и расстройство аутистического спектра (РАС), осложнено тем, что современные исследования, включая разработку моделей машинного обучения и сбор баз данных для обучения таких моделей, в основном, направлены на взрослых людей, особенно когда речь идет о комплексных исходных данных таких как видео (коррелирующие модальности аудио и серии изображений).

Для решения этой проблемы в этой работе описывается набор данных, собранный группой изучения детской речи биологического факультета СПбГУ в рамках проекта РНФ № 22-45-02007, состоящий из образцов видеозаписей детей с типичным развитием и с психоневрологическими отклонениями (СД и РАС), а также предлагается архитектура нейронной сети для автоматического распознавания эмоций таких детей.

Сбор базы данных осуществлялся в лабораторных условиях, в специальной комнате со звукоизоляцией, с помощью звукозаписывающего устройства Marantz PMD660 с частотой сэмплирования 48000 Гц (моно) и видеокамеры SONY HDR-CX560 с разрешением 1920x1080 и частотой 50 кадров в секунду, расположенной на расстоянии один метр от лица ребенка. Каждая сессия проводилась двумя экспертами с более чем 10 лет опыта работы с детьми с типичным и атипичным развитием и длилась от одного до полутора часов. В рамках работы с ребенком, собиралась информация и психоневрологическом развитии ребенка от его родителей или представителей. Каждая сессия начиналась с простого разговора с ребенком, а затем ребенку предлагалось выполнить набор заданий, где ребенку предлагалось воспроизвести эмоции радости, грусти, злости, страха и нейтральной (актерская игра), прочитать заданный текст с указанными эмоциями, посмотреть набор заранее подготовленных изображений и описать что на них происходит. После сбора данных, три эксперта рассмотрели полученные записи с аннотировали сегменты видео в соответствии с отображаемой ребенком эмоцией на данном сегменте.

Для решения задачи автоматического мультимодального распознавания эмоций, предлагается модель нейронной сети, где в качестве базовой модели для обработки серий изображений используется нейронная сеть 3D ResNeXt 50, основанная на модели ResNeXt 50 для обработки изображений с добавлением дополнительного, темпорального измерения. Для обработки аудио модальности, из аудиоданных предварительно выделяются Мел-кепстральные коэффициенты, которые затем обрабатываются одномерной сверточной сетью. Ключевыми элементами предлагаемого решения являются: блок объединения модальностей, реализуемый с помощью механизма внимания, и классификатор, основанный на «картах классов». В блоке объединения для каждой модальности формируется вектор контекста — для видео путем редукции пространственных измерений за счет глобального усреднения. Механизм внимания, основанный на принципе «запрос-ключ-значение», применяется к векторам контекста в окне со смещением и простой полносвязный слой производит карты внимания. После получения карт внимания, новые карты признаков становятся результатом произведения Адамара между исходными картами признаков и картами внимания. В отличие от традиционного подхода к

реализации классификатора полносвязной нейронной сетью, в данной работе предлагается применять механизм внимания для вычисления линейной комбинации карт признаков финального слоя для каждого из целевых классов, при этом коэффициенты каждой такой линейной комбинации являются обучаемыми параметрами. Результатом такой трансформации является набор «карт классов», которые затем усредняются и полученному скалярному вектору применяется функция softmax для предсказания вероятности принадлежности образца к тому или иному классу.

В результате тестирования предложенного решения были получены следующие результаты производительности (точности) в сравнении с базовой моделью. Для базовой модели: 0.482 для детей с типичным развитием (ТР), 0.357 для СД, 0.320 для РАС. Для предложенного в данной работе решения: 0.492 для ТР, 0.375 для СД, 0.335 для РАС. Таким образом, предложенное решение демонстрирует 2-5% улучшение производительности, что позволяет рассматривать его для применения при разработке информационных систем для взаимодействия ребенка с машиной, а также в специализированных сферах, таких как детские дома или школы для детей с атипичным развитием.

***Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 22-45-02007).***



## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СВЯЗНОСТИ В ПОКОЕ У ГРУПП С ДЕПРЕССИЕЙ И ОБСЕССИВНО-КОМПУЛЬСИВНЫМ РАССТРОЙСТВОМ

Митюрева Д.Г.<sup>1</sup>, Сысоева О.В.<sup>1</sup>, Мартынова О.В.<sup>1</sup>, Портнова Г.В.<sup>1</sup>, Хайруллина Г.М.<sup>1</sup>, Прошина Е.А.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Институт когнитивных нейронаук, Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия  
email: di.miturewa@gmail.com

**Ключевые слова:** ЭЭГ, Функциональная связность, ОКР, Большое Депрессивное Расстройство.

Большое депрессивное расстройство (БДР) и обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) являются психическими заболеваниями, драматически влияющими на субъективное благополучие человека. БДР характеризуется длительным сниженным настроением, нарушениями мотивационно-эмоциональной сферы. При ОКР основными симптомами являются обсессии – навязчивые мысли, и компульсии – повторяющиеся действия, которые препятствуют адаптивному функционированию пациента в социуме и вызывают выраженный дискомфорт [1]. Несмотря на различия обоих заболеваний по клинической симптоматике, они высоко коморбидны: депрессия является частым спутником ОКР, на что также указывают совпадения на уровне генетики нейротрансмиттерных систем [3]. Исследование паттернов функциональной мозговой связности (ФС) при данных психопатологиях и их сопоставление могут пролить свет на нейробиологические механизмы заболеваний и способствовать более точной дифференциальной диагностике [2]. Таким образом, целью исследования является анализ ФС между корковыми источниками по ЭЭГ покоя и активности дефолт-системы (Default Mode Network – DMN) мозга у групп ОКР, БДР и нормотипичных участников.

В исследовании приняли участие 103 добровольца из них: 34 имели диагностированное БДР в состоянии ремиссии (29 женщин, возраст  $35.5 \pm 10.07$ ); 26 имели диагностированное ОКР (17 женщин, возраст  $24.7 \pm 6.1$ ); 43 не имели каких-либо психических и неврологических заболеваний в анамнезе (37 женщин, возраст  $28.5 \pm 10.5$ ). Все участники исследования заполнили опросник депрессии Бека (BDI). Тяжесть симптоматики ОКР (только для группы ОКР) оценивалась шкалой Йеля-Брауна.

Запись ЭЭГ состояла из четырех 30-секундных записей с закрытыми и открытыми глазами. Предобработка включала интерполяцию зашумленных каналов, устранение артефактов методом независимых компонент. Вычисление ФС проводилось по эпохам в 2 секунды с 50% перекрытием. ФС между 68 восстановленными корковыми источниками рассчитывалась по формуле взвешенного индекса фазовой задержки (wPLI) в диапазонах 4-30, 4-8, 8-13 и 13-30 Гц. Активность DMN была оценена как средняя сила узлов (сумма весов связей узла) в сети. Структуры входящие в DMN были определены по данным предыдущих исследований.

Анализ межгрупповых различий в ФС был проведен с использованием ANOVA в Network-Based Statistic. Было реализовано 2 модели: взаимодействие факторов группы и условия, эффект фактора группы. F-статистика была рассчитана для каждого значения матрицы, затем был применен порог  $F=4.8$ , оставшиеся значения были использованы для кластерно-пермутационного тестирования. Анализ различий в активности DMN проводился с использованием ANOVA (фактор группы, условия и частотного диапазона: тета, альфа, бета). Для post-hoc анализа был использован критерий Tukey-HSD, результаты считались значимыми при  $p < 0.05$ .

Группы БДР-ОКР не различались по результатам BDI, между группами ОКР-норма и БДР-норма были значимые различия ( $t(66) = -6.412, p < 0.001$ ;  $t(74) = 8.045, p < 0.001$ ). Значимый кластер различий в ФС между группами был обнаружен только для эффекта группы ( $p < 0.05$ ), поэтому для post-hoc анализа значения ФС были усреднены по условиям записи. Кластер включал 67 ФС, в основном концентрирующихся в теменно-затылочных областях преимущественно правого полушария (ПП), а также несколько лобно-затылочных ФС и структуры, входящие в DMN. Значимые различия между группами БДР-норма были обнаружены для 64 связей, большинство которых сильнее выражены в норме, чем при депрессии. Различия между ОКР-нормой включали 48 связей, которые во многом совпадают с отличающимися между БДР-нормой. Различия между ОКР-БДР прослеживались по 3 связям, которые более выражены при ОКР: между каудальной передней поясной корой (кППК), зрительной корой (клин, латеральная окципитальная кора в левом полушарии) и ростральной частью средней лобной извилины ПП. Данные связи также более выражены при ОКР, чем в норме. Для анализа силы DMN был обнаружен эффект интеракции факторов группы и частотного диапазона ( $F(2.7, 135.21) = 2.88, p < 0.05$ ). Сила DMN различалась между группами ОКР-норма и БДР-норма в альфа и бета-диапазонах ( $p < 0.05$  во всех случаях), не было обнаружено различий в тета-диапазоне и между группами ОКР-БДР.

Большая часть различий в ФС между группами контроля, ОКР и БДР проявляется в виде набора ослабленных ФС при ОКР и БДР по сравнению с нормой. Данный набор включает преимущественно теменно-затылочные области и структуры DMN. В тоже время, различий в ФС покоя между группами ОКР и БДР прослеживается гораздо меньше, что может говорить о высокой коморбидности данных заболеваний и на уровне мозговых механизмов, а именно об общности паттернов ФС покоя, характерных для данных психопатологий относительно компонента депрессивной симптоматики, так как различий по BDI между данными группами не обнаружено. Возможно, данный коморбидный аспект проявляется именно в покое и связан с особенностями функционирования дефолт-системы. В то время как специфические для ОКР паттерны мозговой активности могут более выражено проявляться в активных задачах, выявляющих особенности контроля исполнительных функций и внимания к стимулам, вызывающим тревогу [4]. Косвенно в данном исследовании это подтверждается тем, что ФС, более выраженные при ОКР, чем при БДР, включают структуры салиентной и центральной исполнительной сети [5]. Таким образом, по результатам исследования были обнаружены паттерны ФС, отличающие группы ОКР и БДР от контрольной группы, и специфические для данных групп. ФС дефолт-системы мозга в альфа и бета диапазонах оказалась сниженной у обеих групп по сравнению с нормой. Дальнейшие исследования паттернов ФС при данных психопатологиях могут помочь усовершенствовать протоколы дифференциальной диагностики.

***Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, грант №23-25-00531.***

Список литературы.

1. Association A. P. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5.: Washington, DC: American psychiatric association, 2013.
2. Chai Y. и др. Functional connectomics in depression: insights into therapies // Trends Cogn. Sci. 2023. Т. 27. № 9. С. 814–832.
3. Murphy D. L. и др. Anxiety and affective disorder comorbidity related to serotonin and other neurotransmitter systems: obsessive-compulsive disorder as an example of overlapping clinical and genetic heterogeneity // Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 2013. Т. 368. № 1615. С. 20120435.
4. Robbins T. W., Vaghi M. M., Banca P. Obsessive-Compulsive Disorder: Puzzles and Prospects // Neuron. 2019. Т. 102. № 1. С. 27–47.
5. Seeley W. W. и др. Dissociable Intrinsic Connectivity Networks for Salience Processing and Executive Control // J. Neurosci. 2007. Т. 27. № 9. С. 2349–2356.

## ТЕСТИРОВАНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И УСЛОВНОЙ РЕАКЦИИ ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ У ВЗРОСЛЫХ МЫШЕЙ C57Bl/6 В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ОЛИГОМЕРНЫХ ФОРМ БЕЛКА S100a9

*Михайлова Н.П., Соловьева О.А., Грудень М.А., Сторожева З.И.*

*ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина  
e-mail: natali.ivli@yandex.ru*

**Ключевые слова:** болезнь Альцгеймера, S100a9, мышцы, Открытое поле, Условная реакция пассивного избегания.

Болезнь Альцгеймера (БА) – распространенное нейродегенеративное заболевание с выраженным снижением когнитивных функций. Белки семейства S100 вовлечены в патогенез этого заболевания, в частности, провоспалительный белок S100A9 признается одним из триггеров амилоидно-нейродегенеративного каскада, приводящего к развитию БА (Wang et al., 2018). Однако исследования когнитивных процессов в условиях измененного уровня S100a9 единичны. Показано, что олигомеры S100a9 при хроническом интраназальном введении нарушают долговременную память у стареющих 12-месячных мышей C57Bl/6 в модели условной реакции пассивного избегания (УРПИ), но не изменяют общую двигательную активность (Gruden et al., 2016). При этом обнаружено влияние агрегированных форм S100a9 на активность дофамин- и серотонинэргической систем мозга. В развитии БА существенную роль играет взаимодействие факторов старения, воспаления и амилоидогенеза. В связи с этим актуальным является анализ эффектов белка S100a9 на когнитивные функции животных различного возраста. Цель исследования состояла в оценке влияния олигомеров S100a9 при хроническом интраназальном введении на двигательную активность и долговременную память молодых мышей.

Исследование проведено на 25 самцах мышей линии C57Bl/6 в возрасте 3 месяцев (ФГБУН НЦБМТ ФМБА питомник «Столбовая», Россия) с соблюдением норм биомедицинской этики, изложенных в директиве ЕС 2010/63/ от 22 сентября 2010г. На протяжении 14 дней животным ежедневно интраназально вводили раствор олигомеров S100a9 (15 мкг/8 мкл, 0,48 мг/кг, n=13) либо физиологический раствор (ФР, 8 мкл, n=12). На 15-е сутки исследования животных помещали в установку «Открытое поле» (ОП) (Columbus Instruments, США) на 11 минут для оценки двигательной активности. На 18-е сутки оценивали долговременную ассоциативную память при формировании УРПИ в установке PACS Shuttle Box (Columbus Instruments, США). Длительность сессий УРПИ составила 195 с при формировании и 315 с при тестировании спустя 24 ч. При формировании УРПИ мышам наносили электрокожное раздражение лап и хвоста (0,6 мА, 3 с, 4 Гц). С помощью программы Ethovision XT 8.5 (Noldus, Голландия) в ОП определяли среднюю скорость движения мышей, количество входов и время нахождения в центре арены, латентное время (ЛВ) 1-го выхода в центр. При формировании и тестировании УРПИ регистрировали ЛВ перехода мышей в темный отсек. Для статистического анализа использовали пакет SPSS Statistics 17.0 (SPSS Inc., США). Поскольку не все распределения значений в выборках соответствовали нормальному (тест Шапиро-Уилка), использовали непараметрические критерии Манна-Уитни и Вилкоксона. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

В первые 5 минут сессии в ОП экспериментальные мыши двигались со скоростью 5,4 (4,3-6,9) см/с (ФР: 6,6 (5,6-7,2) см/с,  $p=0,103$ ), в последующие 6 – 4,3 (3,9-4,9) см/с (ФР: 4,2 (3,6-5,3) см/с,  $p > 0,2$ ). ЛВ выхода в центр установки у опытной группы составило 18,4 (12,5-59,0) с (ФР: 12,9

(2,9-18,6) с,  $p=0,026$ ). Время нахождения в центре ОП не различалось между экспериментальными и контрольными мышами (5 минут: S100a9: 18,5 (10,1-35,2) с, ФР: 28,4 (18,00-36,2) с,  $p>0,2$ ; 6 минут: S100a9: 30,2 (20,6-52,5) с, ФР: 31,5 (22,4-43,8) с,  $p>0,2$ ). Также не различалось количество входов в центр установки (5 минут: S100a9: 17,0 (10,0-24,5), ФР: 18,5 (14,25-24,0),  $p>0,2$ ; 6 минут: S100a9: 18,0 (12,0-25,0), ФР: 14,0 (11,0-17,25),  $p>0,2$ ). Мыши, которым вводили S100a9, не отличались от контроля по ЛВ перехода в темный отсек ни при формировании, ни при тестировании УРПИ (формирование: S100a9: 23,5 (16,5-95,25) с, ФР: 34,00 (18,00-94,00) с; тест: S100a9: 150,00 (49,75-300,00) с, ФР: 108,00 (50,00-184,00) с,  $p>0,2$ ). При этом у экспериментальных мышей статистически значимо увеличилось количество болюсов при тестировании по сравнению с сессией формирования УРПИ (1,75 (1,1-5,0) vs. 0,5 (0,0-1,0),  $p=0,011$ ), у контрольных изменений этого параметра отмечено не было (1,0 (0,25-2,5) vs. 1,0 (0,0-2,75),  $p>0,2$ ). Таким образом, у молодых мышей не было обнаружено влияния хронического интраназального введения олигомеров S100a9 на общую двигательную активность и показатели сохранности памяти в модели УРПИ. Вместе с тем, наблюдаемое в экспериментальной группе увеличение ЛВ выхода в центр ОП и количества болюсов при тестировании в УРПИ позволяет предположить, что одним из основных эффектом олигомеров S100a9 у молодых животных является модуляция тревожноподобного поведения, которое может быть опосредовано влиянием на моноаминэргическую трансмиссию (Sun et al., 2022, Gruden et al., 2016). Полученные результаты согласуются с данными других авторов (Donovan et al., 2018) о том, что при развитии БА повышение уровня тревожности предшествует развитию когнитивных нарушений.

#### Список литературы:

1. Donovan N.J., Locascio J.J., Marshall G.A. et al., 2018, Harvard Aging Brain Study. Longitudinal Association of Amyloid Beta and Anxious-Depressive Symptoms in Cognitively Normal Older Adults. *Am J Psychiatry*. 175(6):530-537. DOI: 10.1176/appi.ajp.2017.17040442
2. Gruden M.A., Davydova T.V., Wang C. et al., 2016, The misfolded pro-inflammatory protein S100A9 disrupts memory via neurochemical remodelling instigating an Alzheimer's disease-like cognitive deficit. *Behav.BrainRes*. S0166-4328(16)30141-3. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.03.016
3. Sun Y., Wang Z., Hou J. et al., 2022, Shuangxinfang Prevents S100A9-Induced Macrophage/Microglial Inflammation to Improve Cardiac Function and Depression-Like Behavior in Rats After Acute Myocardial Infarction. *Frontiers in pharmacology*, 13, 832590. DOI: 10.3389/fphar.2022.832590
4. Wang C, Iashchishyn IA, Pansieri J, et al., 2018, S100A9-Driven Amyloid-Neuroinflammatory Cascade in Traumatic Brain Injury as a Precursor State for Alzheimer's Disease. *SciRep*. 2018 Aug 27;8(1):12836. DOI: 10.1038/s41598-018-31141-x

## ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОВЕДЕНИЯ РЫБ ZEBRAFISH В ОТСРОЧЕННОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОДРОСТКОВОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

Мусатова С.А.<sup>1,2</sup>, Пестряков А.Д.<sup>1,2</sup>, Ереско С.О.<sup>1,2</sup>, Айранетов М.И.<sup>1,3</sup>

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

<sup>2</sup>СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: sonchous8@gmail.com

В последние годы интерес исследователей привлекает такое явление как «подростковое пьянство» (англ. Adolescent binge drinking). Подростковый возраст является критическим этапом развития нервной системы, в этот период наиболее активно протекает развитие филогенетически наиболее молодых структур головного мозга. В последнее время повышен интерес к проблеме подросткового алкоголизма по причине увеличивающейся распространенности этой проблемы во всем мире. Представляется интересным изучение нейробиологических особенности воздействия алкоголя в этот период развития. Рыбы *Danio rerio* в последнее время все чаще используются как модельный организм в различных областях биологических исследований, в том числе, в нейробиологии алкоголизма. Разработано много различных тестов для исследования поведения рыб при различных расстройствах нервной системы, однако воздействие алкоголя в подростковом возрасте на данном модельном объекте ранее не исследовалось, что и послужило целью нашей работы.

85 Исследование проводилось на 24 рыбах *Danio rerio* (zebrafish). Моделирование воздействия алкоголя в подростковом возрасте (подростковая алкоголизация, ПА) выполнялось путем содержания рыб в течение недели с 21 по 27 d.p.f. (days post fertilization, день после оплодотворения) в аквариуме с 1% этанолом. Концентрацию этанола отслеживали ежедневно. В дальнейшем воздействие этанола отменялось. Поведение рыб измерялось дважды спустя 1 и 3 недели после воздействия алкоголя в двух поведенческих тестах, разработанных R. Gerlai, с некоторыми модификациями: 1) Тест для оценки состояния двигательной активности; 2) Тест для оценки уровня агрессии/социального взаимодействия. Полученные данные были статистически обработаны. Для сравнения групп использовали U-критерий Манна-Уитни для независимых малых выборок. Нормальность распределения проверяли тестом Д'Агостино-Пирсона. Различия считали статистически значимыми при значении  $p \leq 0,05$ .

Оценка двигательной активности рыб в первом тесте осуществлялась путем подсчета числа пересечений рыбами секций в аквариуме (аквариум снаружи был поделен линиями на четыре вертикальные секции и три горизонтальные, всего 12 секций) и в измерении времени нахождения рыб в трех разных горизонтальных секциях аквариума (S1-S3, где S1 – верхняя секция), измерение проводится в двух временных точках (минута 1 и минута 10). Воздействие алкоголя в подростковом возрасте вызвало изменение в поведении рыб относительно группы контроля. Через 1 нед. ПА привела к повышению скорости пересечений секций на 10-ой минуте на 14% в сравнении с группой контроля ( $p \leq 0,05$ ), увеличено время пребывания рыб в S1 (в 2,2 раза,  $p \leq 0,05$ ) и S2 (в 2,2 раза,  $p \leq 0,05$ ) на 1-ой мин, снижено в S1 (в 1,4 раза,  $p \leq 0,05$ ) на 10-ой мин. Через 3 нед. ПА вызвала снижение частоты пересечений секций на 1-ой минуте на 23% ( $p \leq 0,05$ ), на 10-ой мин. на 13% ( $p \leq 0,05$ ). Время пребывания в секциях через 3 нед. было без значимых изменений между группами.

Оценка результатов второго теста заключалась в измерении времени пребывания рыб в четырех вертикальных секция (S'1-S'4). К задней стенке аквариума под углом было расположено

зеркало, где S'1 – секция с минимальным расстоянием до зеркала. Измерение проводится в двух временных точках (минута 1 и минута 10). Через 1 нед. ПА вызвала уменьшение времени пребывания рыб в S'1 в 1,52 раза ( $p \leq 0,05$ ) и увеличение пребывания в S'3 в 2,16 раза ( $p \leq 0,05$ ) на 1-ой мин, на 10-ой мин. уменьшение времени пребывания рыб в S'1 в 1,39 раза ( $p \leq 0,05$ ) и увеличение пребывания в S'3 в 1,36 раза ( $p \leq 0,05$ ). Также были зафиксированы некоторые изменения в поведении, оцененные этим тестом, через 3 нед. после ПА.

Таким образом, используемые нами в исследовании тесты показали наличие поведенческих изменений по прошествии одной и трех недель от воздействия алкоголя в подростковом возрасте. Можно сделать вывод о наличии стойких нейрофизиологических изменений, вызванных подростковой алкоголизацией. Планируется в будущем оценка поведения рыб в других тестах, а также проведения биохимических и молекулярно-генетических исследований с целью выяснения причин наблюдаемых изменений в поведении рыб. Кроме того, необходимо проведение исследований с другими моделями подростковой алкоголизации, где будет оказываться воздействие на разных сроках подросткового развития организма, а также разное по продолжительности время содержания рыб в растворе этанола.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ У ЛЮДЕЙ С СИНДРОМОМ ВИЗУАЛЬНОГО СНЕГА МЕТОДОМ МЭГ

*Наумова С.М.<sup>1,2</sup>, Обухова Т.С.<sup>2</sup>, Манюхина В.О.<sup>2</sup>, Прокофьев А.О.<sup>2</sup>,  
Артеменко А.Р.<sup>3</sup>, Орехова Е.В.<sup>2</sup>*

*1 Институт когнитивных нейронаук, Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики» (НИУ ВШЭ), г. Москва, Россия*

*2 Центр нейрокогнитивных исследований (МЭГ-центр), Московский государственный психолого-педагогический университет (МГППУ), г. Москва, Россия.*

*3 ФГАОУ ВО Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия*

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

**Ключевые слова:** синдром визуального снега, патофизиология, контрастное усиление, гипервозбудимость коры.

Синдром визуального снега (СВС) – неврологическое расстройство, характеризующееся наличием в поле зрения подвижных точек, напоминающих «снег» на плохо настроенном аналоговом телевизоре. СВС часто сопровождается другими зрительными феноменами (палинопсия, фотопсия, повышенный уровень зрительного дискомфорта и др.), а также неврологическими и психическими нарушениями. СС и сопутствующие симптомы могут быть чрезвычайно изнурительными и приводить к выраженной дезадаптации (Fraser, 2022). Предполагают, что СВС связан с повышенной возбудимостью зрительной коры (Ghannam, 2017). Однако до конца не ясно, характерна ли повышенная кортикальная возбудимость для всех пациентов с СВС и определяет ли она испытываемый пациентами зрительный дискомфорт и иные зрительные нарушения. В данной работе для оценки возбудимости зрительной коры при СВС мы исследовали динамику изменений амплитуды устойчивых вызванных магнитных полей (УВМП) при увеличении контраста стимула (контрастное усиление, КУ). Мы предположили, что повышенная возбудимость зрительной коры при СВС выразится в отсутствии/снижении насыщения ответа при высоком контрасте (Won, 2017) и будет коррелировать с уровнем зрительного дискомфорта, испытываемом пациентами.

Выборку составили 23 человека с СВС (14 мужчин, 9 женщин, средний возраст  $27 \pm 5.52$  лет) и 28 неврологически здоровых контрольных испытуемых (16 мужчин, 12 женщин, средний возраст  $27.46 \pm 4.49$  лет). С помощью магнитоэнцефалографии (МЭГ) мы регистрировали УВМП при предъявлении реверсирующих (6.6 Гц) решеток пяти контрастов (5, 10, 20, 40 и 80%). Зависимость величины ответа от уровня контраста описывалась стандартной моделью функции КУ. Целевым параметром был параметр «s», отражающий степень насыщения функции КУ (Won, 2017). Зрительный дискомфорт оценивали по опроснику Conlon (1999).

Параметр насыщения «s» оказался сниженным у пациентов с СВС по сравнению с контрольными испытуемыми ( $t=2.1$ ,  $p=0.046$ , Cohen's  $d=0.6$ ), что свидетельствует о повышенной возбудимости зрительной коры при СВС. Также, пациенты с СВС испытывали значительно больше зрительного дискомфорта, чем здоровые испытуемые ( $Z=5.0$ ,  $p<0.001$ ). Однако, зависимости между уровнем зрительного дискомфорта и параметром насыщения функции КУ у пациентов с СВС не наблюдалось ( $r=0.1$ ,  $p=0.3$ ).

Хотя возбудимость зрительной коры у пациентов с СВС повышена на групповом уровне, она, вероятно, не является основной причиной зрительного дискомфорта при этом неврологическом нарушении.

## СЛУХОВОЙ СТАЦИОНАРНЫЙ ОТВЕТ У ДЕТЕЙ С ИДИОПАТИЧЕСКОЙ И СИНДРОМАЛЬНЫМИ ФОРМАМИ РАС

*Неклюдова А.К., Сысоева О.В.*

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

*E-mail: [anastacia.neklyudova@gmail.com](mailto:anastacia.neklyudova@gmail.com)*

**Ключевые слова:** ЭЭГ, слуховой стационарный ответ, расстройства аутистического спектра, синдром Ретта, синдром Фелан-МакДермида.

Слуховой стационарный ответ (ССО) — реакция мозга на предъявление длительного ритмического стимула (например, последовательности щелчков), которая на ЭЭГ соответствует частоте стимуляции. Некоторые исследования, указывают, что данный ответ нарушен при расстройствах аутистического спектра (РАС) [1,2], в то время как другие этого не обнаруживают [3,4]. Было также показано, что амплитуда 40-Гц ССО связана с работой NMDA рецепторов на парвальбуминовых тормозных нейронах [5], поэтому, учитывая гетерогенную этиологию РАС, можно предположить, что нарушения ССО наблюдается в тех случаях, где затронут именно этот молекулярно-биологический путь. Для проверки этой гипотезы мы изучили ССО у детей с РАС, а также с двумя синдромальными формами РАС, т.е., генетическими синдромами, при которых наблюдается высокий риск возникновения аутизма. Были выбраны два синдрома: синдром Ретта (нарушение в гене MECP2) и синдром Фелан-МакДермида (нарушение в гене SHANK3). Предыдущие исследования показали нарушение работы парвальбуминовых тормозных нейронов при этих заболеваниях [6,7].

88

В настоящем исследовании мы изучили выраженность ССО у детей с РАС (n=41, возраст: 10.9±4.9), а также с двумя синдромальными формами: синдромом Ретта (n=35, возраст: 7.6±3.3) и синдромом Фелан-МакДермида (n=11, возраст: 10.9±6.5). Контрольная группа состояла из 45 человек (возраст 10.2±3.4), однако для синдрома Фелана-МакДермида мы подобрали 11 испытуемых, уравниваемых по возрасту в пределах 4 месяцев (возраст 10.8±6.5).

Испытуемые смотрели видео без звука, и одновременно в наушники им предъявлялись последовательности щелчков с частотой 16, 27, 40 и 83 Гц длительностью 500 мс и межстимульным интервалом 500-800 мс. Во время стимуляции осуществлялась запись ЭЭГ с помощью 28-канального энцефалографа (система Neurotravel) с частотой дискретизации 500 Гц. Данные ЭЭГ были распределены по эпохам в пределах 200 мс до стимула и 500 после, эпохи, превышающие по амплитуде 3 стандартных отклонения, убирались из анализа (процедура повторялась до тех пор, пока в этом диапазоне не переставали обнаруживаться данные). После этого мы провели частотно-временной анализ с использованием вейвлетов Морле с шагом в 2 Гц в диапазоне от 1 до 50 Гц для стимуляции на 16, 27 и 40 Гц и в диапазоне от 1 до 90 Гц для стимуляции на 83 Гц. После этого мы рассчитали значения фазовой когерентности, которая показывает стабильность фазовой синхронизации во время предъявления стимуляции. Далее значения когерентности были усреднены в диапазоне 0-500 мс, а также в пределах 2 Гц от частоты стимуляции. Для дальнейшего анализа мы брали среднее значение 6 электродов (FC3, FC4, FCz, C3, C4 and Cz), так как топографическое распределение показало, что значения когерентности выше именно в этих электродах. В статистическом анализе использовались логарифмированные значения.

Для оценки статистических гипотез был проведен анализ ANCOVA со значениями фазовой когерентности как зависимой переменной и фактором Частота как внутригрупповым фактором, фактором Группа как межгрупповым фактором, а также возрастом как ковариатой отдельно для



группы РАС и группы синдрома Ретта. Для группы детей с синдромом Фелана-МакДермида из-за маленькой выборки мы провели ранговый тест Вилкоксона для каждой частоты со значениями фазовой когерентности как зависимой выборки и Группой как фактором.

Для группы детей с РАС значимым эффектом обладал фактор Частоты ( $F(3,228)=44.511$ ,  $p<0.001$ ), Группы ( $F(1,76)=15.155$ ,  $p<0.001$ ), а также взаимодействие Возраста и Частоты ( $F(3,228)=4.403$ ). Эффект Группы выражался в том, что ССО был ниже у детей с РАС на всех частотах ( $p<0.001$ ), а фактор Частоты выражался в том, что фазовая когерентность была выше на 27 Гц по сравнению с 16 Гц ( $p<0.001$ ), между 27 Гц и 40 Гц различий не было, и на 83 Гц была значимо ниже, чем на 40 Гц ( $p<0.001$ ), причем эта закономерность была показана также отдельно в группе РАС. Взаимодействие Возраста и Частоты означало увеличение фазовой когерентности с возрастом лишь на 40 Гц ( $r=0.33$ ,  $p=0.003$ ), что было также показано отдельно для группы РАС ( $r=0.44$ ,  $p=0.008$ ).

Для группы синдрома Ретта было выявлено значимое влияние эффекта Частота ( $F(3,192)=25.733$ ,  $p<0.001$ ), Группа ( $F(1,64)=10.469$ ,  $p=0.003$ ), а также взаимодействие факторов Группа и Частота ( $F(3,192)=6.275$ ,  $p<0.001$ ). Взаимодействие проявлялось в том, что фазовая когерентность в группе с синдромом Ретта была ниже на 27 Гц ( $p<0.001$ ) и на 40 Гц ( $p<0.001$ ), но не на 16 и 83 Гц.

Для группы синдрома Фелан-МакДермида было обнаружено снижение значений фазовой когерентности на частоте 40 Гц ( $r=0.441$ ,  $p=0.03$ ), но не на остальных частотах.

В нашей работе мы показали селективное снижение слухового стационарного ответа в двух генетических синдромах: при синдроме Ретта — на частотах 27 и 40 Гц и при синдроме Фелан-МакДермида на частоте 40 Гц. При этом, в группе детей с РАС были повторены основные закономерности изменений слухового ответа, хоть и наблюдалось снижение амплитуда на всех частотах. Мы можем предположить, что нарушение при синдромах связано с нарушением работы парвалбуминовых интернейронов, в то время как в группе РАС оно наблюдается лишь в случае, если причина появления РАС связана с задействованием именно этого пути.

89

1. De Stefano LA, Schmitt LM, White SP, Mosconi MW, Sweeney JA, Ethridge LE. Developmental Effects on Auditory Neural Oscillatory Synchronization Abnormalities in Autism Spectrum Disorder. *Front Integr Neurosci* [Internet]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnint.2019.00034>
2. Roberts TPL, Bloy L, Liu S, Ku M, Blaskey L, Jackel C. Magnetoencephalography Studies of the Envelope Following Response During Amplitude-Modulated Sweeps: Diminished Phase Synchrony in Autism Spectrum Disorder. *Front Hum Neurosci*
3. Edgar JC, Fisk CL, Liu S, Pandey J, Herrington JD, Schultz RT, et al. Translating Adult Electrophysiology Findings to Younger Patient Populations: Difficulty Measuring 40-Hz Auditory Steady-State Responses in Typically Developing Children and Children with Autism Spectrum Disorder. *Dev Neurosci*. 2016;38(1):1–14.
4. Ono Y, Kudoh K, Ikeda T, Takahashi T, Yoshimura Y, Minabe Y, et al. Auditory steady-state response at 20 Hz and 40 Hz in young typically developing children and children with autism spectrum disorder. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2020;74(6):354–61.
5. Sivarao D. V. et al. 40 Hz auditory steady-state response is a pharmacodynamic biomarker for cortical NMDA receptors // *Neuropsychopharmacology*. – 2016. – Т. 41. – №. 9. – С. 2232-2240.
6. Ito-Ishida A, Ure K, Chen H, Swann JW, Zoghbi HY. Loss of MeCP2 in Parvalbumin- and Somatostatin-Expressing Neurons in Mice Leads to Distinct Rett Syndrome-like Phenotypes. *Neuron*. 2015 Nov 18;88(4):651–8.

7. Filice F. et al. Reduction in parvalbumin expression not loss of the parvalbumin-expressing GABA interneuron subpopulation in genetic parvalbumin and shank mouse models of autism //Molecular brain. – 2016. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-17.

## **ОСОБЕННОСТИ ВЫЗВАННОЙ СИНХРОНИЗАЦИИ/ДЕСИНХРОНИЗАЦИИ ЭЭГ ПОСЛЕ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЯ И УДЕРЖАНИЯ ВНИМАНИЯ ДО СОВЕРШЕНИЯ ОШИБКИ**

*Овакимян А.С., Каримова Е.Д.*

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

*E-mail: [ag@commontech.ru](mailto:ag@commontech.ru)*

**Ключевые слова:** пространственное внимание, ошибки, переключение внимания, частотно-временной анализ, вызванная синхронизация/десинхронизация.

На правильность и точность выполнения человеком однообразных задач с моторным ответом может влиять определенный режим функционирования нисходящей сети внимания (1, 2). Подобный феномен был изучен по итогам проведенного электрофизиологического эксперимента, нацеленного на выявление особенностей спектральной вызванной мощности электроэнцефалограммы (далее - ЭЭГ) при удержании и переключении зрительного пространственного внимания. В ходе эксперимента было выявлено большое количество ошибок, совершаемых участниками эксперимента, что позволило проверить еще одну гипотезу: каковы паттерны спектральной вызванной мощности (синхронизации/десинхронизации) ЭЭГ при ошибочных моторных ответах.

90 Выборка составила 24 человека (12 мужчин), правши. В качестве стимульного материала предлагалась задача Познера — реакция на отклонения целевой решетки Габора справа или слева от центрального крестика. До целевого стимула предъявлялись цветковые подсказки, указывающие на целевую решетку. Подсказки двух типов: появляющиеся с одной стороны (удержание неявного внимания) и с меняющиеся стороны (переключение неявного внимания). Всего участникам предъявлялось 264 серии подсказок: 161 серия для переключения внимания, 103 - для удержания внимания. Количество ошибок на целевой стимул в среднем составило 35% от общего количества проб. Во время эксперимента проводилась запись 64 канальной ЭЭГ (BrainProduct, Germany).

Для выявления особенностей мозговой активности после подсказок проводился частотно-временной анализ с использованием вейвлета Морле. Предобработка ЭЭГ и удаление артефактов осуществлялась методом независимых компонент. В качестве фоновой активности был взят временной фрагмент состояния покоя от -600 до -100 мс до начала предъявления каждой серии подсказок. Для анализа вызванной синхронизации/десинхронизации рассматривались отведения FC3/FC4, F3/F4 и P3/P4, CP3/CP4. В качестве статистического анализа был использован метод пермутационного кластерного анализа с непараметрическим алгоритмом t-критерия Стьюдента.

Для сравнения была проанализирована вызванная синхронизация/десинхронизация активности ЭЭГ после двух типов подсказок: переключающих и удерживающих внимание, а также до правильных и неправильных ответов во всех частотных диапазонах.

В тета-диапазоне частот вторая волна тета-синхронизации после переключения внимания значимо ( $p < 0.05$ ) выше второй тета-волны после удержания внимания до неправильных ответов в отведении FC3 (латентность 800 - 1000 мс). Также вторая волна тета-синхронизации значимо ( $p < 0.05$ ) выше до неправильного ответа в сравнении с активностью до правильного ответа в отведениях F3, P3 после удержания внимания. А после переключения внимания тета-

синхронизация до неправильных ответов значимо ( $p < 0.05$ ) выше в отведении CP3 (200-400 мс).

В альфа-диапазоне еще до появления последней подсказки обнаружены значимые различия (-200 мс), причем вызванная синхронизация при переключении внимания значимо ниже, чем при удержании в левополушарных отведениях (F3, FC3, P3, CP3). Также обнаружены значимые многочисленные кластеры в отведении F4, отражающие общий уровень более высокой альфа-мощности после удержания внимания, чем после переключения внимания до неправильных ответов.

В верхнем частотном диапазоне бета-ритма (24-35 Гц) синхронизация после удержания внимания до ошибок выше, чем после переключения внимания в отведении FC3 (100 - 400 мс). До правильных ответов наблюдаются значимые кластеры в отведении CP4 и P4, где бета-мощность после переключения внимания выше, чем после удержания с латентностью 800-1000 мс. В тех же отведениях и латентности выявлены значимые кластеры различий между синхронизацией верхнего бета-ритма после удержания внимания, активация до неправильных ответов выше, чем до правильных.

Основные результаты обнаружены в левополушарных узлах нисходящей сети внимания после подсказок типа «удержание». В тета-диапазоне можно заметить отсутствие первой волны тета-синхронизации до ошибки, а также значимые отличия во второй волне тета-синхронизации. Также ошибкам предшествовала высокая альфа-синхронизация перед последней подсказкой в лобных и теменных отведениях. Кроме того, были выявлены более высокие мощности в верхнем частотном диапазоне бета-ритма перед неправильными ответами в правополушарных теменных отведениях.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ПОИСК МЕТОДОВ ИХ КОРРЕКЦИИ

*Пази М.Б., Екимова И.В.*

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

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

**Ключевые слова:** Болезнь Паркинсона, лактицистин, альфа-синуклеин, GRP78, ЭР-стресс.

Болезнь Паркинсона (БП) - нейродегенеративное заболевание, характеризующееся моторными нарушениями вследствие гибели 50-60% дофамин(ДА)-ергических нейронов в компактной части черной субстанции (кчЧС). Поздняя диагностика БП, когда большинство специфических нейронов уже утрачено, объясняет низкую эффективность лечения, кроме того, существующая терапия направлена на облегчение симптомов и не может остановить нейродегенерацию. Основной причиной дегенерации считается формирование токсичных агрегатов белка  $\alpha$ -синуклеина ( $\alpha$ S). Данные исследований *postmortem* и на животных моделях БП указывают, что накопление  $\alpha$ S происходит не только в цитозоле нейронов, но и в просвете эндоплазматического ретикулума (ЭР), что в конечном счете приводит к развитию ЭР-стресса по апоптотическому пути. Шаперон GRP78 способствует рефолдингу и деградации белков, а также является главным регулятором ЭР-стресса. Таким образом, GRP78 может быть потенциальной терапевтической мишенью для лечения БП. Цель исследования: Изучить молекулярные механизмы нейродегенерации в крысиной модели доклинической стадии БП и оценить возможность их коррекции с помощью интраназального введения рекомбинантного GRP78. Материалы и методы: Работа выполнена на самцах крыс линии Вистар (6 мес.) Для создания модели БП применены микроинъекции ингибитора протеасом лактацистина (ЛЦ) в кчЧС (n=14). Рекомбинантный белок GRP78 человека вводили интраназально дважды через 4 и 24 ч после каждой микроинъекции ЛЦ (n=14). В контрольную группу вошли животные, получавшие растворители ЛЦ и/или GRP78 (n=14). Патоморфологические и нейрохимические изменения в нигростриатной системе были оценены методами иммуногистохимии и иммуноблоттинга через 2 недели после последней микроинъекции ЛЦ. Для оценки проникновения экзогенного GRP78 в мозг при его интраназальном введении, использован GRP78 с флуоресцентной меткой Alexa555\* и конфокальная микроскопия. Статистический анализ проводили с помощью ANOVA с последующим применением *post-hoc* критерия Тьюки. Впервые показана биодоступность экзогенного GRP78, введенного интраназально: в течение 1-3 ч GRP78 проникает в головной мозг и интернализуется ДА-ергическими нейронами и микроглией в кчЧС. Доклиническая модель БП характеризовалась дегенерацией 20-30% нейронов в кчЧС и их аксонов в дорзальном стриатуме. Нейродегенерация сопровождалась развитием  $\alpha$ S патологии, активацией проапоптотической GRP78/eIF2a/CHOP-ветви стресса ЭР в кчЧС, развитием микроглиоза и нейровоспаления через NF- $\kappa$ B сигнальные пути. Терапия с GRP78 в модели доклинической стадии БП ослабляла нейродегенерацию и основные молекулярно-клеточные нарушения: а) предотвращала накопление фосфорилированной по pS129 формы  $\alpha$ S; б) препятствовала активации GRP78/eIF2a/CHOP сигнального пути ЭР стресса и каспаз -9, 3; г) ослабляла микроглиоз и развитие NF- $\kappa$ B-провоспалительного каскада. Выводы: Полученные данные указывают, что уже на ранних стадиях БП развивается ряд молекулярно-клеточных нарушений, включающих в себя  $\alpha$ S патологию, развитие проапоптотической ветви ЭР стресса и NF- $\kappa$ B-зависимого нейровоспаления. Показаны защитные эффекты GRP78, которые связаны с его способностью препятствовать развитию этих нарушений.

*(Государственное задание No АААА-А18-118012290427-7).*

## АНАЛИЗ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ shGDNF-1 И ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ МОЗГА ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ ИЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ

*Паршина В.В., Шамадыкова Д.В., Ревущин А.В., Алексеева А.И., Павлова С.А.,  
Фаб Л.В., Павлова Г.В.*

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

**E-mail:** [parshina-v-v@yandex.ru](mailto:parshina-v-v@yandex.ru)

**Ключевые слова:** GDNF, глиома, ишемический инсульт.

В ранних исследованиях мы показали, что экспрессия новой изоформы shGDNF-1 в головном мозге здоровой взрослой крысы обнаруживается в области субвентрикулярной зоны, то есть в зоне нейрогенеза. Мы показали, что shGDNF-1 обнаруживается в молодых нейронах SVZ в большей степени у новорожденных крысят, чем у взрослой крысы. Задачей текущей работы было изучить представленность shGDNF-1 при патологических процессах мозга в клетках глиобластомы или ишемического инсульта. Исследование проводилось на крысах. Для ишемического инсульта использовался метод введения в головной мозг эндотелина-1, для анализа глиобластомы использовались крысы с имплантированной опухолевой тканью 101/8 крысы или клеток глиобластомы человека BU88.

Глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor - GDNF) – это белок, относящийся к семейству лигандов (GFL). Этот белок первоначально был выделен из глиальных клеток крыс. GDNF принадлежит большой группе белков-нейротрофический факторов. Нейротрофические факторы играют очень важную роль в развитии нервной системы в ходе эмбриогенеза, а также в поддержке дифференцировки нервных клеток и способствуют выживаемости различных групп нейронов на протяжении жизни. Показано, что в норме GDNF синтезируется популяциями нейронов (дофаминовыми нейронами черной субстанции и стриатума, двигательными, чувствительными нейронами и др.). Секретируется GDNF паракринно во многих отделах головного мозга: коре, гиппокампе, стриатуме, черной субстанции, таламусе, мозжечке, а также в спинном мозге. В случаях повреждения мозга повышение экспрессионной активности GDNF наблюдается и у глиальных клеток – астроцитов, микроглии, а так же у макрофагов [1,2]. В ранней работе нами было показано, что новая изоформа GDNF - shGDNF-1 в головном мозге здоровой взрослой крысы локализована в субвентрикулярной зоне, конкретно в NeuN+ и DCX+ клетках. Как было сказано выше, при повреждении мозга GDNF начинает экспрессироваться в глиальных клетках. Таким образом, перед нами стояла задача выяснить, меняется ли локализации и уровень экспрессии изоформы shGDNF-1 при патологических состояниях. Для этого мы провели иммуногистохимический анализ срезов мозга взрослых крыс после индукции ишемического инсульта методом введения эндотелина, а также срезов крыс и индуцированной глиобластомой (линия 101.8), а также срезов крыс после введения клеток глиомы человека (линия BU88). Нами исследовалась локализация shGDNF-1 в NeuN+ и GFAP+ клетках.

Мы провели моделирование следующих патологических состояний крыс: ишемического инсульта методом введения в головной мозг эндотелина-1; глиобластомы крысы методом введения клеток линии 101.8 с последующим опухолеобразованием; а также произвели введение клеток глиомы человека линии BU88. Полученные мозговые срезы были окрашены антителами против shGDNF-1 параллельно с антителами против NeuN и GFAP для определения типа клеток, экспрессирующих изоформу.

Мы обнаружили, что в мозговых срезах крыс при патологических состояниях, которые были вызваны в рамках этой работы, экспрессия shGDNF-1 не повышается. Также было показано, что экспрессия shGDNF-1 не была характерна для GFAP+ клеток.

Несмотря на то, что для GDNF в норме характерна экспрессия в нейронах, а при повреждениях головного мозга - в клетках глии, новая изоформа shGDNF-1 имеет отличные паттерны экспрессии. ShGDNF-1 в головном мозге нормальной взрослой крысы экспрессируется в нейронах; в случае патологических состояний мы также не обнаруживаем экспрессию в глиальных клетках. На данный момент мы не нашли вовлечение shGDNF-1 в процессы, связанные с патологическими состояниями головного мозга.

***Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по соглашению №075-15-2021-1343.***

- 1) Duarte Azevedo M., Sander S., Tenenbaum L. GDNF, A Neuron-Derived Factor Upregulated in Glial Cells during Disease //Journal of clinical medicine. – 2020. – Vol. 9. – №. 2. – P. 456
- 2) Cintrón-Colón A. F. et al. GDNF synthesis, signaling, and retrograde transport in motor neurons //Cell and tissue research. – 2020. – Vol. 382. – №.1. – P. 47-56.

## ОЦЕНКА ОСОБЕННОСТЕЙ МЕХАНИЗМОВ ИМПЛИЦИТНОГО НАУЧЕНИЯ: ДАННЫЕ ЭЭГ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Петров В.В., Абрамова С.Р., Кожевников С.П.*

*Удмуртский Государственный университет, Ижевск, Россия  
petrov24sl@gmail.com*

**Ключевые слова:** имплицитное научение, ЭЭГ, нейрофизиология, память.

Способность к обнаружению закономерностей в окружающей среде является центральной для многих аспектов человеческого познания. Однако во многом не решенным остается вопрос о роли сознания и бессознательного, кроме того недостаточно изученными остаются нейрофизиологических механизмы некоторых видов познавательной деятельности. В связи с этим целью нашего исследования являлось исследование нейрофизиологических механизмов имплицитного научения на основе показателей биоэлектрической активности мозга.

Основной методикой, служит методика усвоения искусственной грамматики, предложенная А. Ребером (1967). Тестирование состояло из обучающей серии (36 стимулов) и контрольной серии (24 стимула). Стимулы были разделены на обучающую (с обратной связью) и опытную серии (без обратной связи). Оценку особенностей нейрофизиологических механизмов при имплицитном научении проводили в сравнении со эксплицитным научением, для чего использовали буквенные последовательности, с очевидными закономерностями. В процессе выполнения всех функциональных проб производилась запись ЭЭГ. Эпоха анализа составляла 20 секунд. Спектры амплитуды строились в стандартных частотных диапазонах. ЭЭГ регистрировали по 8 отведениям по схеме 10-20%. В исследовании приняли участие 42 человека. Статистическая обработка данных заключалась в оценке достоверности межгрупповых отличий при выполнении функциональных проб с использованием дисперсионного анализа ANOVA. Расчеты выполнялись в программе SPSS 23.

Прямые сравнения параметров ЭЭГ активности в процессе освоения различных видов научения демонстрируют, что для имплицитного научения характерны повышенные показатели амплитуды в диапазоне  $\theta$ - ритма наиболее выраженные в передне-височных областях коры. Рост амплитуды этого ритма может отражать субъективную сложность задания и часто фиксируются при усложнении или усилении афферентного потока. Кроме того, обработка противоречивой информации или связанной с обнаружением ошибок также увеличивают амплитуду данного ритма [1]. Все это может указывать на обучение методом проб и ошибок [2]. Это предположение подтверждается результатами имплицитного научения, точность которого не превышает 60%, что указывает на большое количество ошибок, допущенных в ходе прохождения обучения имплицитно.

Анализ отличий в более высокочастотных диапазонах показывает, что для имплицитного научения характерны повышенные показатели амплитуды во всех поддиапазонах  $\alpha$ - ритма, особенно выраженные во фронтальных и передне-височных областях коры. Изменения в данном частотном диапазоне наблюдаются при выполнении различных видов когнитивной деятельности. Традиционно повышенная синхронность в этом диапазоне рассматривается как признак развития тормозных процессов и снижения уровня функциональной активности коры. Однако десинхронизация  $\alpha$ -ритма является ведущим механизмом активации когнитивных функций только при доминирующем внимании к внешним стимулам. Когда внимание направлено на "внутренние" процессы, синхронность  $\alpha$ -ритма возрастает. Некоторые авторы считают, что синхронизация  $\alpha$ -ритма способствует более эффективной обработке информации

путем взаимодействия проекционных, ассоциативных и подкорковых образований на макроуровне [3].

В более высокочастотном  $\beta$ 2-диапазоне научение проходит на фоне повышенной амплитуды в теменно-затылочных областях коры. Это хорошо сочетается со спецификой выполняемой деятельности и активацией зрительного восприятия. В некоторых исследованиях показано, что неявное обучение активирует различные сенсорные области коры и по сути является модально специфичным [4]. Вместе с изменениями в  $\alpha$ -диапазоне это может указывать на активацию специфической системы, способствующей более тщательной обработке информации и формированию представления о релевантной последовательности. Активация этой системы может быть связана с неявным характером искомых закономерностей и трудностью их быстрого обнаружения, что приводит к повышению бдительности и сосредоточению внимания. Результатом работы данной системы является формирование прогноза на основе которого строится процесс обучения.

#### Список литературы

1. Giller F., Bensmann W., Mückschel M., Stock A. K., Beste C. Evidence for a causal role of superior frontal cortex theta oscillations during the processing of joint subliminal and conscious conflicts. // *Cortex*. 2020. Vol. 132. P. 15-28.
2. Karakaş S. A review of theta oscillation and its functional correlates. // *Int. J. Psychophysiol.* 2020. Vol 157. P. 82-99.
3. Русалова М.Н. Функциональная асимметрия мозга и эмоции // *Успехи физиологических наук*, 2003, Том 34, №4, С. 93-112.
4. Reber P.J. The neural basis of implicit learning and memory: A review of neuropsychological and neuroimaging research // *Neuropsychologia* 2013. №51. P.2026–2042.



## АВТОМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОВЕДЕНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ ГРЫЗУНОВ В СООТНОШЕНИИ С КЛЮЧЕВЫМИ АСПЕКТАМИ СРЕДЫ

*Плюснин В.В.<sup>1,2</sup>, Савельев Н.П.<sup>1</sup>, Рогов Г.А.<sup>1</sup>, Торопова К.А.<sup>1,2</sup>, Ивашкина О.И.<sup>1,2</sup>,  
Анохин К.В.<sup>1,2</sup>*

*1 Институт перспективных исследований мозга, Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*2 Лаборатория нейронного интеллекта, Московский государственный университет им. М.В.  
Ломоносова, Москва, Россия*

Email: [witkax@mail.ru](mailto:witkax@mail.ru)

**Ключевые слова:** автоматический анализ поведения, грызуны из естественных популяций.

Анализ специфических активаций нейронов относительно элементов внешней среды, поведения или внутреннего состояния животных невозможен без детального анализа поведенческих актов экспериментального животного. В настоящее время были достигнуты некоторые успехи в автоматической сегментации поведения животных с использованием методов машинного обучения [1,2] на основе данных о местоположении частей тела животного [3]. На данном этапе такие методы не позволяют достичь желаемого уровня точности в сегментации поведения, а также не позволяют соотнести поведенческие акты животного с целевыми и мотивационными аспектами среды. При этом подавляющее большинство методов были разработаны для анализа поведения лабораторных животных и требуют дополнительной оптимизации для анализа поведения грызунов из естественных популяций. В связи с этим, авторами был разработан комплекс программных средств для извлечения широкого спектра поведенческих переменных из видеозаписей поведения как лабораторных мышей, так и грызунов из естественных популяций в экспериментальных обстановках и математического анализа континуума поведенческих актов.

Для извлечения широкого спектра поведенческих переменных необходима детекция отдельных частей тела животного. Для той задачи нами был использован DeepLabCut - открытый тулбокс для поведенческого трекинга экспериментальных животных, основанный на принципе трансферного обучения с использованием глубоких нейронных сетей. Нами была отработана методика определения местоположения частей тела животного в различных поведенческих средах и сформирован набор частей тела животного, удовлетворяющий двум требованиям: высокая чувствительность к мелким моторным движениям животного и высокий процент точного определения местоположения части тела. В случае съемки камерой сверху такой набор включает кончик носа, уши, основание хвоста, центр тела мыши, передние и задние конечности, левый и правый бок туловища животного.

Далее нами был разработан комплекс программных средств извлечения и детальной аннотации поведенческих переменных из данных о кинематике частей тела животного в различных когнитивных задачах: SPHYNX (<https://github.com/iabsneuro/sphynx>). Разработанная нами автоматизированная система состоит из двух основных скриптовых модулей: CreatePreset и BehaviorAnalyzer. Модуль CreatePreset осуществляет взаимодействие с пользователем, в ходе которого происходит выбор типа геометрии арены и расположения в ней объектов, указание необходимых для анализа временных и пространственных параметров. Результат работы скрипта сохраняется в виде mat-файла, который может быть использован для анализа поведения всех видео эксперимента, при условии постоянства взаимного расположения арены и видеокamеры, а также дизайна эксперимента. Модуль BehaviorAnalyzer осуществляет предварительную обработку временных рядов координат частей тела животных, формирует

массив данных о кинематике частей тела - кинематограмму, выделяет дискретные поведенческие акты животного и аннотирует поведение животного в соотношении с мотивационными и целевыми аспектами среды.

Комплекс программных средств был адаптирован для анализа поведения грызунов из естественных популяций: рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*), малой лесной мыши (*Sylvaemus uralensis*) и полевой мыши (*Apodemus agrarius*). Для этого были учтены анатомические различия грызунов в сравнении с лабораторными животными и оптимизированы параметры автоматического поведенческого анализа.

***Исследование выполнено при финансовой поддержке междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект» и Программы развития МГУ, проект №23-Ш03-02.***

#### Литература

1. Weinreb, C., Osman, M., Zhang, L. et al. Keypoint-MoSeq: parsing behavior by linking point tracking to pose dynamics// bioRxiv [Preprint]. 2023. doi: 10.1101/2023.03.16.532307.
2. Hsu, A., Yttri, E. B-SOiD, an open-source unsupervised algorithm for identification and fast prediction of behaviors// Nature Communications. 2021. V. 12. P. 5188. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25420-x>
3. Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K., et al. DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning// Nat Neurosci. 2018. V. 21. P. 1281–1289. <https://doi.org:papers3://publication/doi/10.1038/s41593-018-0209-y>

# ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПРИ РЕШЕНИИ СЛОЖНЫХ ДИНАМИЧЕСКИХ ЗАДАЧ ВО ВРЕМЯ ANTIORTOSTATICHESKOY GIPOKINEZII

*Поляниченко А.А., Котровская Т.И., Счастливец Д.В.*

*ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации — Институт медико-биологических проблем РАН»  
e-mail: alekseipolyanichenko@mail.ru*

**Ключевые слова:** антиортостатическая гипокинезия, электроэнцефалограмма, сложные динамические задачи.

Результаты наземных экспериментов, имитирующих состояние невесомости, показали наличие негативных изменений когнитивных функций мозга (Cassady K. et al., 2016; Cohen I. et al., 2016). Антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) является одной из известных моделей невесомости, когда развивающиеся компенсаторно-адаптивные реакции сопровождаются уменьшением объема циркулирующей плазмы и перемещением объемов внеклеточной жидкости и крови из брюшной полости и нижних конечностей в краниальном направлении (Marshall-Goebel K. et al., 2019; Brauns K. et al., 2021). Можно предположить, что такие процессы также вызывают снижение ряда когнитивных функций, которые наблюдали (Basner M. et al., 2021) при исследованиях с воздействием на человека 60-дневной АНОГ (6°).

Изучение влияния 21-суточной антиортостатической гипокинезии (-6°), моделирующей некоторые физиологические эффекты невесомости, на нейрофизиологические особенности добровольцев при выполнении сложных динамических задач.

99

Экспериментальное изучение влияния антиортостатической гипокинезии на нейрофизиологические реакции человека и на показатели выполнения сложных динамических задач проведено на базе ГНЦ РФ – ИМБП РАН в два этапа: I в 2021г. и II в 2022г. Нейрофизиологические и когнитивные параметры регистрировали за 7 суток до начала (фон) и через 3 суток по завершении эксперимента (последствие), а также, на 3, 10, 17, 21 сутки во время I этапа и на 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 21 сутки во время II этапа АНОГ. Программы двух этапов эксперимента были утверждены на секции ученого совета и одобрены Комиссией по биомедицинской этике при ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 599 от 06.10.2021 г. и протокол № 621 от 08.08.2022 г.). В общей сложности 12 здоровых добровольцев-мужчин в возрасте от 24 до 40 лет (29,8 ± 4,6) были отобраны врачебно-экспертной комиссией ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Добровольцы в течение 21-х суток находились в условиях постельной гипокинезии в антиортостатическом положении с углом наклона -6° относительно горизонта. Наблюдение за динамикой работы мозга осуществлялось с помощью метода электроэнцефалографии (ЭЭГ). ЭЭГ регистрировали с помощью электроэнцефалографа-анализатора "ЭНЦЕФАЛАН-ЭЭГА-19/26" согласно международной системе 10-20 от 19 стандартных отведений до и после выполнения добровольцами сложных динамических задач. В качестве первичных показателей рассчитывали относительные значения мощности (ОЗМ) - ЭЭГ-спектра в дельта-2- (2-4 Гц), тета- (4-8 Гц), альфа- (8-13 Гц) и бета-1- (13-24 Гц) диапазонах суммарно для всех отведений. ОЗМ – процентное отношение спектральной мощности отдельного диапазона к площади всего спектра, принятой за 100%. Анализ динамики когнитивных функций осуществлялся по результатам выполнения сложных динамических задач из тестового блока ПО "CleverBalls".

Результаты выполнения сложных динамических задач, которые отражали динамику уровня когнитивной нагрузки добровольцев двух малых групп, носили различный характер. Карты распределения спектральной мощности ЭЭГ-ритмов большинства добровольцев обеих групп

демонстрировали достаточную стабильность ритмических составляющих ЭЭГ, у 4 человек наблюдали нарастание тета-активности во время действия фактора АНОГ, что могло являться признаком тормозных процессов в коре головного мозга. Совокупность количественных изменений показателей ЭЭГ (увеличение ОЗМ Дельта- и ОЗМ Тета- при одновременном снижении ОЗМ Альфа- и ОЗМ Бета-диапазона) в группе добровольцев, участвовавших в I этапе эксперимента АНОГ свидетельствовало о нарастании тормозных процессов в коре головного мозга, тогда как у добровольцев другой группы такие сдвиги отсутствовали. Умеренное снижение ОЗМ Тета- и Бета-диапазона при небольшом увеличении ОЗМ Альфа-диапазона у добровольцев из II этапа свидетельствовало о некотором снижении уровня направленности внимания на фоне небольшой релаксации.

Полученные в работе результаты совпадают с данными ряда авторов. Так, в обзоре (Barkaszi I. et al., 2022) многолетних сравнительных исследований когнитивных функций человека в космическом полете и условиях АНОГ указывается на то, что после и во время длительных (45- и 60-дневных) экспериментах с АНОГ не выявлено ухудшения когнитивных функций. Что особенно примечательно, в большинстве исследований не было выявлено явного ухудшения успешности выполнения умственных задач во время космических полетов. Также в обзоре указано, что ЭЭГ данные не дают целостной картины изменений в работе мозга во время АНОГ. Например, Brauns K. et al., 2021 обнаружили снижение мощности во всех диапазонах частот ЭЭГ-спектра, что контрастировало с данными, свидетельствовавшими об увеличении Альфа- (Chéron G. et al., 2006) и Тета-диапазона (Petit G. et al., 2019) в КП. Вероятнее всего, результаты когнитивных тестов во многом зависят от фактического физиологического и психологического состояния человека, например, от стресса, умственной усталости, сонливости и др. Кроме того, всегда следует также учитывать индивидуальные различия, особенно в исследованиях с небольшим количеством участников и, что наиболее важно, существующие различия в вестибулярной устойчивости и чувствительности к смещению жидкости в сторону краниального отдела.

*Работа поддержана темой РАН № 63.2.*

## ПОИСК КОГНИТИВНЫХ СПЕЦИАЛИЗАЦИЙ НЕЙРОНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЗАИМНОЙ ИНФОРМАЦИИ

*Поспелов Н.А. \*, Сотсков В.П., Плюснин В.В., Рогожникова О.С., Торопова К.А.,  
Ивашкина О.И., Анохин К.В.*

*Институт Перспективных Исследований Мозга МГУ им. М.В. Ломоносова  
119991, Москва, Ленинские горы д.1  
\*e-mail: nik-pos@yandex.ru*

**Ключевые слова:** кальциевый имаджинг, когнитивные специализации, взаимная информация.

Особенный интерес для анализа когнитивных специализаций нейронов представляет их соотнесение с переменными внешней среды и поведением животного. Среди возможных мер такой взаимосвязи особенно выделяется взаимная информация (mutual information, MI), т.к. она позволяет охарактеризовать нелинейные взаимосвязи между исследуемыми переменными, чувствительна к их синхронизации и позволяет количественно охарактеризовать не только значимость связи, но и ее силу. Однако существенная трудность заключается в практических сложностях расчета MI для реальных данных. В данной работе нами были адаптированы современные методы расчета MI для последующего анализа взаимосвязи между сигналом кальциевой флуоресценции и поведенческими переменными. Используемые методы были объединены в программный пакет под названием INTENS (INformation-Theoretic Evaluation of Neuronal Specializations), который использовался для поиска когнитивно специализированных нейронов при анализе данных кальциевой активности гиппокампа при обследовании животными арены с разным уровнем новизны.

101

Существуют многочисленные методы анализа взаимосвязи между спайками нейрона и поведенческими переменными. Некоторые из них основаны на информационно-теоретическом подходе [1]. Однако особенный интерес представляет извлечение информации о связи кальциевого флуоресцентного сигнала с поведением, т.к. этот сигнал дает важную дополнительную информацию о подпороговых активациях нейрона. В настоящей работе применяется метод вычисления взаимной информации, основанный на энтропии гауссовой копулы GСMI [2]. Метод основан на том факте, что взаимная информация между двумя случайными величинами не зависит от их частных распределений, но только от вида копулы (многомерного распределения, у которого каждое частное распределение равномерно).

Для того, чтобы оценить значимость рассчитанной информационной связи между кальциевым сигналом и поведенческой переменной, истинная MI сравнивалась с ее значениями, рассчитанными на сдвинутых относительно друг друга по времени сигналах. Также был разработан метод оценки величины эффекта связи: взаимная информация между флуоресцентным сигналом и поведением была нормирована на заранее рассчитанное значение энтропии каждой из этих случайных величин.

Важно, что описанный выше подход работает как для непрерывных величин (к примеру, кальциевый сигнал и скорость животного), так и для пар непрерывной и дискретной переменных (кальциевый сигнал и наличие/отсутствие груминга).

В ходе анализа записанных кальциевых сигналов зоны CA1 гиппокампа были выделены как специализации нейронов относительно внешней среды - нейроны места, так и специализации относительно поведенческих актов животного, - нейроны, специфически активирующиеся при побежках, стойках, замирании и т.д. Были обнаружены нейроны, селективно активирующиеся относительно дополнительного набора дискретных параметров, представляющих собой комбинацию местоположения животного в арене (в центре, у стен, в углах) и скорости

животного (покой, медленное и быстрое перемещение). Суммарно за все 4 сессии эксперимента была выявлена 781 специализация в 472 нейронах, при этом, одни и те же нейроны могли иметь несколько специализаций. Однако большинство (55%) нейронов имели единственную специализацию.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Некоммерческого Фонда развития науки и образования «Интеллект».*

#### Литература

1. Strong, S.P., de Ruyter van Steveninck, R.R., Bialek, W., Koberle, R. On the application of information theory to neural spike trains. Pac Symp Biocomput. 1998; 621-632.
2. Ince, R.A., Giordano, B.L., Kayser, C., Rousselet, G.A., Gross, J., Schyns, P.G. A statistical framework for neuroimaging data analysis based on mutual information estimated via a gaussian copula. Hum Brain Mapp. 2017 Mar; 38(3), 1541-1573.

## ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ САМЦОВ И САМОК КРЫС В КЛАССИЧЕСКОЙ ПАРАДИГМЕ АКТИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ

*Пупкина М.Е.<sup>\*1,2</sup>, Ситникова Е.Ю.<sup>\*1</sup>*

- 1 Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва;*
- 2 Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва  
e-mail: mariapupkina@yandex.ru*

**Ключевые слова:** активное избегание, поведенческие стратегии, крысы WAG/Rij.

УРДИ – это классическая методика исследования процессов обучения и памяти у грызунов и человека. У лабораторных крыс этот тест выполняется в челночной камере, разделенной на два отсека. Крыса может получить слабое электрокожное раздражение в каждом из отсеков после предъявления условного (т.е. предупреждающего) стимула – звуковой или световой сигнал. Крыса должна перейти в соседний отсек, который всегда является безопасным.

Мы выделяем четыре стратегии поведения в этом тесте у крыс : избегание (крыса переходит в «безопасный» отсек после предъявления звука и до удара током), избавление (крыса переходит в «безопасный» отсек после удара током) пассивная реакция (крыса не переходит в «безопасный» отсек после удара током и ждет его окончания) и не до конца выученное избегание (когда время реакции незначительно отличается от времени начала безусловного стимула).

103

В данной работе использован однодневный тест УРДИ. Исследование выполнено на 50 крысах (5-8 мес; 19 самок и 31 самцов). Все самки были протестированы в фазу диэструса эстрального цикла. Крысы подлинии NEW, селектированные из ис крыс WAG/Rij по признаку отсутствия абсанс-эпилепсии. До начала теста в течение 3 минут крысу помещали в камеру для адаптации к обстановке. Во время теста крысы обучались избегать воздействия электрического тока (0.5 мА, электрокожное раздражение, безусловный стимул), который следовал через 4.5 с после предъявления звука силой 70 дБ (условный стимул), перемещаясь в соседний (безопасный) отсек. Интервал между предъявлениями стимулов длился от 30 до 40 с (длительность определялась случайным образом). Электрический ток подавался в тот отсек, в котором находилась крыса. Если крыса не переходила в «безопасный» отсек в течение 40 с, электрическая стимуляция прекращалась, и следующая попытка начиналась после 30–40 с межстимульного интервала. Тест УРДИ включал 50 предъявлений стимула вне зависимости от эффективности обучения. Если крыса не переходила в безопасный отсек в течение 20 предъявлений, тестирование прекращали.

Параллельно УРДИ проводили запись ультразвуковой вокализации с целью охарактеризовать эмоциональное крыс в стрессовой ситуации. Ультразвуковая вокализация была исследована у 21 самца и 9 самок в течение 3-минутного периода адаптации и в течение тестовой сессии.

Анализ результатов тестирования показал, что ~26 % самцов не обучались в тесте УРДИ и проявили пассивную стратегию. Соотношение хорошо и плохо обучившихся самок составило 76:24 %, а самцов 61:13 % (26 % самцов не смогли учиться). Реакции, время которых значимо не отличалось от 4.5 с можно рассматривать как быстрые реакции избавления или недостаточно выученные реакции избегания. Подобная стратегия чаще встречалась у самок.

Во время обучения активному избеганию 11 самцов издавали ультразвуковые сигналы тревоги (52.4%) и 5 самок (55.6%). Суммарная продолжительность аверсивной вокализации во время

тестовой сессии у самцов была значительно выше, чем у самок. Установлено, что самцы издавали более интенсивные сигналы тревоги с частотой 24-25 кГц по сравнению с самками. В результате, только самцы проявляли пассивную стратегию и чаще вокализировали. Самки чаще всего демонстрировали избегание и не до конца выученное избегание. Формирование ассоциативного страха у самок происходило быстрее, чем у самцов. Таким образом, самки демонстрировали более высокие способности к обучению.



## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СОЦИАЛЬНОМ ПОВЕДЕНИИ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

*Ребик А.А., Сысоева О.В., Мидзяновская И.С.*

*ФГБУН Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия  
rebik\_anastasiya@mail.ru*

**Ключевые слова:** социальное поведение крыс, линия крыс Вистар, поведенческая нейробиология, возрастная динамика.

Исследования социального поведения нормальных крыс; важны для изучения фенотипа животных, используемых как контроли для дальнейших исследований в области нейрофизиологии, изучении возрастных изменений и фармакологии. Крысы являются стайными животными и демонстрируют широкий спектр сложного социального поведения. Изучение социальной мотивации крыс может дать представление о нейронных, генетических факторах и факторах окружающей среды, влияющих на социальность млекопитающих. Ряд исследований, в той или иной степени, показывают изменения в социальном поведении крыс с возрастом [1-3,6]. Для нативных животных существуют исследования, которые показывают довольно линейное изменение социальной мотивации с выраженным угасанием с возрастом [2,3].

Проведя поведенческие тестирования у множества разновозрастных крыс, мы заметили, что параметры социального-поведения обладают выраженной вариативностью и разным выбором приоритетных поведенческих актов, во время прохождения тестов. Было решено провести исследование, которое позволило бы создать динамическую кривую изменений социального поведения у нормальных крыс в период от 2 до 8 месяцев. В этих возрастных пределах животных чаще всего используют для проведения различных исследований [2], поэтому полученные данные помогут соотносить собственные данные с литературными.

В исследование включались интактные самцы линии Вистар: 8 крыс в возрасте от 2 до 3 месяцев, 16 крыс в возрасте от 4 до 5 месяцев и, 10 крыс в возрасте от 7 до 8 месяцев. Животные поступили в виварий ИВНД и НФ РАН из питомника в возрасте 6-8 недель и содержались по 4-6 особей в клетке со свободным доступом к пище и воде. Двухмесячные самцы выращивались в виварии института с рождения. Все животные, включенные в эксперимент, тестировались однократно, без повторов в старшем возрасте.

Для оценки социального взаимодействия был выбран «3-камерный тест на социальное предпочтение/социальную новизну» и «социально обогащенное открытое поле» [4]. Для описания общей активности и тревожности использовался тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Для трекинга использовалось программное обеспечение ToxTrac 2.98 [5]. Автоматически регистрировались: время в выделенных зонах, длина пройденного пути, количество и длительность эпизодов замирания. С помощью экспертной оценки регистрировались: контакты; вертикальные стойки; короткий и длинный груминг. Основным статистическим методом оценки достоверности между группами был U-критерий Манна-Уитни.

Тест: «Приподнятый крестообразный лабиринт». С увеличением возраста крыс, наблюдается снижение уровня тревожности и двигательной активности. Наблюдалось снижение горизонтальной ( $p=0,02$ ) и вертикальной активности ( $p=0,01$ ) у 8-месячных крыс по сравнению с остальными возрастными группами; увеличение числа эпизодов короткого груминга ( $p=0,02$ ), и эпизодов замирания ( $p=0,005$ ) при укороченном среднем времени замирания ( $p<0,001$ ) у 2-

месячных крыс. Время нахождения в закрытых рукавах( $p=0,008$ ) существенно не отличалось между 2- и 5-месячными крысами.

Тест: «Социально обогащенное открытое поле». Основным объектом анализа в тестах на социальность является социальное взаимодействие, выраженное в форме контактов морды свободноподвижной крысы с клеткой стимульного животного. 2-месячные крысы чаще вступали в контакт со стимульным животным( $p=0,011$ ). Однако общее время контакта для всех возрастных групп значимо не отличается.

В тесте на социальное предпочтение, количество контактов со стимульным животным достоверно не различалось между возрастными группами. Однако у 5-месячных крыс общее время контакта( $p=0,023$ ) значимо меньше по сравнению с другими группами.

В тесте на социальную новизну, 2-месячные животные чаще всего контактировали( $p=0,02$ ) с незнакомым стимулом, чем остальные крысы. Следует отметить, что существенной разницы в продолжительности контактов с незнакомым стимулом нет. Количество контактов со знакомым животным-стимулом существенно не отличалось между исследованными возрастными группами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что параметры социального поведения нормальных крыс обладают выраженной вариативностью, обусловленной разнонаправленной динамикой локомоторной и социальной активности. Полученные данные позволяют уточнить и углубить понимание механизмов социального поведения грызунов.

#### Литература

1. Crawley J.N, What's Wrong with My Mouse? Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice, John Wiley and Sons, –2000–329 pp ISBN:978-0-471-47192-9
2. Netser, S., Meyer, A., Magalnik, H. Distinct dynamics of social motivation drive differential social behavior in laboratory rat and mouse strains. Nat Commun 11,5908(2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19569-0>
3. Potrebić MS, Pavković ŽZ, Srbovan MM, Dmura GM, Pešić VT. Changes in the behavior and body weight of mature, adult male Wistar han rats after reduced social grouping and social isolation. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2022 Nov 1;61(6):615-623. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-22-000032
4. Rebik A, Broshevitskaya N, Kuzhuget S, Aleksandrov P, Zaichenko M, Midzyanovskaya I. Audiogenic seizures and social deficits: no aggravation found in Krushinsky–Molodkina rats. Biomedicines. 2023;11(9):2566. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092566>
5. Rodriguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P.L. and Andersson, M. ToxTrac: a fast and robust software for tracking organisms. Methods in Ecology and Evolution. 2018; 9(3) :460-464. DOI: 10.1111/2041-210X.12874.
6. Sudakov, S.K, Alekseeva, E.V, Nazarova, G.A, Bashkatova, V.G. Age-related individual behavioural characteristics of adult Wistar rats. animals. 2021; 11(8):2282. <https://doi.org/10.3390/ani11082282>

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕДЕНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ ГРЫЗУНОВ В ОТКРЫТОМ ПОЛЕ

*Рогов Г.А.<sup>1,2</sup>, Торопова К.А.<sup>2,3</sup>, Ивашкина О.И.<sup>2,3</sup>, Плюснин В.В.<sup>2,3</sup>,  
Рогожникова О.С.<sup>2,3</sup>, Олейниченко В.Ю.<sup>4</sup>, Анохин К.В.<sup>2,3</sup>*

*1 Биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*2 Институт перспективных исследований мозга, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*3 Лаборатория нейронного интеллекта Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*4 Биологический факультет, кафедра зоологии позвоночных, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Email: [georgerogov@bk.ru](mailto:georgerogov@bk.ru)

**Ключевые слова:** грызуны из естественных популяций, исследовательское поведение, открытое поле, обогащенная среда, автоматический анализ поведения.

Исследовательская активность - одно из важнейших свойств поведения. Она лежит в основе таких процессов, как поиск пищи, партнера и исследование индивидуального участка животного. Исследовательская активность зависит от многих факторов. Примерами таких факторов являются новизна пространства, пол, возраст, вид животного и экологическая ниша вида. Целью данной работы являлся анализ роли новизны, богатства пространства и вида животных в их исследовательском поведении. Для этого в работе были использованы грызуны из естественных популяций: самцы рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) и малой лесной мыши (*Sylvaemus uralensis*) возрастом subadultus. Данные грызуны относятся к двум разным семействам, обладают разными экологическими нишами и различным рационом, по-разному используют пространство и имеют различную суточную активность. Рыжая полевка питается преимущественно зеленью. Этот вид предпочитает опушку леса, осветленные участки и поляны. Рыжая полевка активна на протяжении всего дня с вечерним и утренним пиком активности. Малые лесные мыши имеют активность, смещенную к ночи и активны с наступлением темноты. Для малых лесных мышей основой рациона являются семена. Их местообитание схоже с рыжими полевыми. Молодые особи находятся в стадии расселения и поиска индивидуального участка, что положительно сказывается на их исследовательской активности, поэтому для работы были выбраны именно они. Помимо диких грызунов в работе были использованы лабораторные мыши линии C57BL/6J. Лабораторные мыши в отличие от грызунов из естественных популяций обладают меньшим индивидуальным опытом и живут в более бедной среде. Включение лабораторных мышей в эксперимент дало нам возможность влияние фактора индивидуального опыта, а также сравнить полученные данные с данными литературы.

Для проведение данной работы на территории Звенигородской биостанции имени С. Н. Скадовского были отловлены 12 самцов рыжей полевки и 13 самцов малой лесной мыши. Также в работу были взяты 13 самцов лабораторных мышей линии C57Bl/6 возрастом 3-4 месяца. Для эксперимента было использовано пустое открытое поле и обогащенное открытое поле с лабиринтом из кубиков и визуальными ориентирами. Сам эксперимент состоял из 2 частей. После 7-дневной адаптации к условиям вивария была проведена первая часть. На протяжении 4 дней грызунов помещали в пустое открытое поле. При этом вели видеозапись с использованием инфракрасных ламп, в отсутствии источников видимого света. Вторая часть

эксперимента началась после 10 дневного периода отдыха. Животных помещали на протяжении 4 дней в обогащенное открытое поле, и на 5й день возвращались обратно в пустое открытое поле. После полученные видеозаписи были обработаны экспертной аннотацией поведения в программе BORIS. В дополнение к этому был проведен автоматический анализ поведения с применением программы DeepLabCut и разработанного в лаборатории программного пакета SPHYNX(<https://github.com/iabsneuro/sphynx>). В результате экспертного анализа были выделены поведенческие акты, связанные с исследовательской активностью. Для обогащенной арены были выделены акты, связанные с взаимодействием с объектами. Помимо этого, были описаны и различные другие акты, не связанные с исследовательской активностью. С помощью экспертного анализа поведения были выделены такие параметры как доля времени в разных частях арены, доля остановок и побегов, количество и длительность актов замирания. Всего было обработано 351 видео длительностью 20 минут каждое.

Полученные данные свидетельствуют о том, что полевки проявляют наименьшую исследовательскую активность среди изученных грызунов. Малые лесные мыши по выраженности исследовательского поведения занимают промежуточное положение по отношению к исследованным грызунам. Наиболее активно исследующими как пустое, так и обогащенное открытое поле, оказались лабораторные мыши. Высокая активность лабораторных мышей может быть связана с меньшим индивидуальным опытом и проживанием в более скудной среде. Дикие грызуны были изъяты из более богатой среды и имеют больший индивидуальный опыт. Поэтому они могут проявлять большую осторожность находясь в открытом поле. При этом нами были обнаружены специфические поведенческие акты, характерные, как только для мышей, независимо от их происхождения, так и только для грызунов из естественных популяций. Первый факт, по-видимому, отражает важность филогенетического родства для исследовательской активности, а второй указывает на важность жизненного опыта животных.

108

Помимо этого, было замечено изменение в структуре поведения при переходе из пустого в обогащенное открытое поле: исследовательская активность меняет свою направленность со среды на объекты. У мышей появление объектов в арене сопровождалось снижением количества актов, направленных на обследование пространства арены, тогда как у полевок такого изменения в структуре поведения не наблюдалось. Также нами было проведено сравнение экспертного и автоматического анализа поведения. С помощью экспертного анализа поведения было возможно выделение новых актов, разделение актов на подтипы. С помощью автоматической аннотации стал возможен анализ параметров, регистрация которых человеком затруднена. Непосредственное сравнение точности автоматической и экспертной аннотации поведения было проведено на примере акта стойки. По результатам этого сравнения был сделан вывод о необходимости доработки алгоритмов автоматического анализа поведения в случае работы с грызунами из естественных популяций.

*Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, проект №23-Ш03-02.*

## КАЛЬЦИЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ ОБЛАСТИ CA1 ГИППОКАМПА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ И ИЗВЛЕЧЕНИИ ПАМЯТИ У МОЛОДЫХ И ПОЖИЛЫХ МЫШЕЙ

*Рогожникова О.С.<sup>1,2</sup>, Ивашкина О.И.<sup>2</sup>, Торопова К.А.<sup>1,2</sup>, Сотсков В.П.<sup>1,2</sup>,  
Плюснин В.В.<sup>1,2</sup>, Анохин К.В.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*Институт перспективных исследований мозга МГУ им. Ломоносова*

<sup>2</sup>*Лаборатория нейронного интеллекта, МГУ им. М. В. Ломоносова*

*Москва*

*Email: [osrogozhnikova@gmail.com](mailto:osrogozhnikova@gmail.com)*

**Ключевые слова:** кальциевая активность, минископная регистрация, область CA1, ассоциативная память.

Известно, что в процессе формирования памяти о новом опыте у животного наблюдается активация многих областей мозга. В частности, в этот процесс активно вовлекаются нейроны области CA1 гиппокампа у мышей при обследовании новой обстановки [1]. Однако, остаётся неясным, как изменяется активность нейронов области CA1 при формировании памяти об обстановке, а также при её извлечении. Кроме того, на данный момент остаётся невыясненным вопрос о существовании характерных изменений в активности нейронов у пожилых животных при формировании и извлечении памяти об обстановке.

В нашей работе мы исследовали изменения кальциевой активности нейронов области CA1 гиппокампа при формировании и извлечении ассоциативной памяти об обстановке в модели усиления памяти предобучением у молодых и пожилых мышей.

109

Регистрацию кальциевой активности отдельных нейронов проводили с помощью миниатюрного микроскопа (минископа), позволяющего оптически детектировать активные нейроны благодаря флуоресценции кальциевого сенсора. Для этого мышам была проведена стереотаксическая операция, в рамках которой был введён кальциевый флуоресцентный сенсор NCaMP7 в область CA1 гиппокампа [3]. Затем в исследуемую область была вживлена GRIN-линза диаметром 0,5 мм, а на голове мыши устанавливали крепления для минископа. Эксперимент проводили через неделю после операции. В первый день проводили процедуру предобучения: мышей помещали в новую обстановку для знакомства с ней в течение 5 минут, в результате чего у мышей было сформировано пространственное представление об обстановке. Через три дня мышей кратковременно помещали в ту же обстановку и немедленно наносили электрокожное раздражение (ЭКР) в течение 2с (1,5мА). Таким образом сформированное ранее представление об обстановке было ассоциировано с состоянием страха животного. Тестирование ассоциативной памяти проводили через три дня после нанесения ЭКР: мышей помещали в ту же обстановку на 5 минут.

Мерой сформированной ассоциативной памяти у мышей являлся уровень их замираний в обстановке. Молодые мыши демонстрировали низкий уровень замираний в первый день посещения контекста. Также низкий уровень замираний мы наблюдали у пожилых мышей в первый день эксперимента. При извлечении сформированной ранее памяти значительно вырос уровень длительности замираний у мышей двух групп, в сравнении с первым днём, что говорит о том, что животные этой группы сформировали ассоциативную память об обстановке. Для анализа изменения кальциевой активности при формировании и извлечении памяти мы оценивали изменение уровня нейронной активности в каждом отдельном акте замираний животного. Кальциевая активность отдельных нейронов области CA1 была зарегистрирована при первом посещении обстановки и при извлечении памяти. У каждой мыши было зарегистрировано в среднем 20 нейронов в двух исследуемых группах в двух сессиях

эксперимента. При этом мы не обнаружили значимых изменений в числе активных нейронов у молодых и пожилых животных в моменты их замираний в обстановке.

Полученные результаты указывают на то, что процессы формирования и извлечения ассоциативной памяти не проявляются в изменении числа активных клеток в момент замирания животного. Возможно, исследуемые процессы формирования и извлечения памяти отражаются в иных формах активности мозга, таких как когнитивные карты обстановки, представляющие собой сеть когнитивно-специализированных нейронов (полей места).

***Работа была поддержана грантом РФФ 20-15-00283, Междисциплинарной научно-образовательной школой МГУ им. М.В. Ломоносова «Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект» и некоммерческим фондом поддержки науки и образования «ИНТЕЛЛЕКТ».***

1. Santarelli, Anthony J., Arshad M. Khan, and Andrew M. Poulos. "Contextual fear retrieval-induced Fos expression across early development in the rat: An analysis using established nervous system nomenclature ontology." *Neurobiology of learning and memory* 155 (2018): 42-49.
2. Subach, Oksana M., Vladimir P. Sotskov, Viktor V. Plusnin, et al. "Novel genetically encoded bright positive calcium indicator NCaMP7 based on the mNeonGreen fluorescent protein." *International journal of molecular sciences* 21, no. 5 (2020): 1644.

# ВЛИЯНИЕ ЭНДОГЕННОГО NO НА ВЫБРОС СЕРОТОНИНА В МЕДИАЛЬНОЙ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЕ ПРИ ВЫРАБОТКЕ И ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ УСЛОВНОЙ РЕАКЦИИ СТРАХА

*Сусорова М.А.*

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

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

**Ключевые слова:** медиальная префронтальная кора, серотонин, оксид азота, условнорефлекторная реакция страха, генерализация страха.

Механизмы функционирования внутримозговой системы страха представляют собой важную область для исследований, поскольку нарушения в их работе сопровождаются рядом стрессовых заболеваний и расстройств. Повышенная генерализация страха является одним из следствий таких нарушений и представляет собой неоправданный страх, который распространяется не только на стимулы, представляющие опасность, но и на сходные, но безопасные стимулы. Известно, что медиальная префронтальная кора (мПК) – одна из ключевых областей внутримозговой системы страха – участвует в контроле генерализации страха. На активность мПК значительное влияние оказывают серотонинергическая и нитрергическая нейромодуляторные системы, и, по данным нашей лаборатории, обе эти системы мПК оказывают влияние на формирование генерализованного страха. Вместе с тем, остается недостаточно исследованным, взаимодействуют ли две эти системы в мПК в ходе формирования генерализованного страха. Таким образом, целью работы было исследование влияния блокады эндогенных NO-сигналов на серотонинергическую систему мПК в ходе выработки условной реакции страха, а так же на генерализацию этой условной реакции.

Работа выполнена на крысах линии Спрег-Доули методом прижизненного внутримозгового микродиализа. Животным с имплантированными в мПК диализными канюлями осуществляли перфузию мПК искусственной спинномозговой жидкостью (ИСМЖ). В начале эксперимента собирали 5 фоновых порций диализата, а затем крыс разделили на три группы. Животным группы «Контроль» проводили выработку условной реакции страха (УРС) – предъявляли условный звуковой сигнал (CS+) в сочетании электрокожным раздражением лап, а через 70 минут проводили тест «Дифференцировка 1», предъявляя безопасный дифференцировочный сигнал (CS-). Животным групп «NA» и «NPLA» проводили такие же процедуры, однако после сбора фоновых порций диализата животным этих групп в ИСМЖ добавляли ингибитор NO-синтазы – N-омега-нитро-L-аргинин (NA, 0.5 мМ) и селективный ингибитор нейронной NO-синтазы – N-омега-пропил-L-аргинин (NPLA, 2 мМ), соответственно. На следующий день животных всех групп тестировали на проявления генерализованного страха, предъявляя CS- («Дифференцировка 2»), а через 70 минут предъявляли CS+ (реализация УРС). В ходе всех тестов оценивали время замирания на CS+ и CS- – показатель страха у грызунов. Диализат собирали каждые 15 минут и анализировали на изменение уровня внеклеточного серотонина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Выработка УРС и тест «Дифференцировка 1» у крыс группы «Контроль» сопровождались подъемом уровня внеклеточного серотонина относительно фоновых значений. Введение в мПК животных NPLA (2 мМ) снижало уровень внеклеточного серотонина в мПК относительно собственных фоновых значений и уменьшало подъемы уровня серотонина, вызываемые выработкой УРС и «Дифференцировкой 1» при сравнении с группой «Контроль». Введение в мПК крыс NA (0.5 мМ) также приводило к снижению базального уровня внеклеточного серотонина в мПК и уменьшало его подъем во время выработки УРС по сравнению с крысами

группы «Контроль». Анализ поведения животных показал, что крысы групп «NA» и «NPLA» больше замирали на CS- во время теста «Дифференцировка 1» по сравнению с животными группы «Контроль», но не различались между собой по величине этого параметра. В ходе теста «Дифференцировка 2» крысы групп «NA» и «NPLA» меньше замирали на CS- по сравнению с крысами группы «Контроль», однако не различались между собой по этому показателю. В ходе реализации УРС между животными групп «Контроль», «NA» и «NPLA» не было выявлено различий по длительности замирания на CS+.

В работе показано, что серотонинергическая система мПК находится под тоническими активационными влияниями эндогенного NO нейронного происхождения, поскольку устранение таких влияний введениями селективного ингибитора нейронной NO-синтазы снижает базальный уровень серотонина, а также его функциональный подъём, вызванный выработкой УРС и тестом «Дифференцировка 1». Кроме того, такая блокада NO-сигналов в мПК приводила к усилению первоначальной генерализации страха («Дифференцировка 1»), но к снижению проявлений генерализованного страха через сутки («Дифференцировка 2»). Ранее в нашей лаборатории было показано, что активация серотонинергической системы мПК введениями селективного ингибитора обратного захвата серотонина – флуоксетина в ходе выработки УРС приводила к усилению проявлений генерализованного страха на следующий день. В соответствии с этим мы полагаем, что уменьшение генерализации страха вследствие блокады эндогенных нитрергических сигналов опосредовано снижением выброса серотонина в мПК в ходе выработки УРС.



## РОЛЬ ИНФЛАМЭЙДЖИНГА В ИНИЦИАЦИИ И ПРОГРЕССИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Сентябрева А.В.<sup>1,2</sup>, Мирошниченко Е.А.<sup>1,2</sup>, Косырева А.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ морфологии человека им. акад. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт молекулярной и клеточной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия  
[alexandraasentyabreva@gmail.com](mailto:alexandraasentyabreva@gmail.com)

**Ключевые слова:** нейродегенерация; инфламэйджинг; старение; болезнь Альцгеймера.

Инициальные механизмы нейродегенеративных заболеваний, в том числе болезни Альцгеймера, по-прежнему недостаточно изучены. Недавние исследования позволяют предположить, что одну из наиболее важных ролей в мультифакторном патогенезе нейродегенерации играет инфламэйджинг – возраст-ассоциированное системное низкоуровневое воспаление, возникающее в результате накопления в организме сенесцентных клеток. Нейродегенеративные заболевания относятся к группе возраст-ассоциированных, однако, большинство исследований проводится не на старых, а на половозрелых животных, которые на внешнее воздействие будут реагировать иначе ввиду своего физиологического статуса. Цель исследования – выявление морфофункциональных изменений в головном мозге у половозрелых и старых крыс Вистар при моделировании нейродегенерации длительным потреблением хлорида алюминия.

113 Работа выполнена на половозрелых (возраст 3 месяца) и старых (возраст 24 месяца) самцах крыс Вистар массой тела 220-250 г и 420-480 г соответственно. Половозрелые и старые крысы двух опытных групп (n=10 в каждой) потребляли водный раствор  $AlCl_3$  в дозе 100 мг/кг/сут в течение 8 недель. Половозрелые и старые животные двух контрольных групп (n=10 в каждой) потребляли питьевую воду ad libitum. На гистологических препаратах головного мозга, окрашенных методом Ниссля, определяли процент видоизмененных гиперхромных нейронов в зубчатой извилине, СА1 и СА3 зонах гиппокампа. Методом qPCR-RT в префронтальной коре головного мозга оценивали уровень экспрессии мРНК *Il-18*, *Tnf- $\alpha$* , *Il-10*, *Tgf- $\beta$* , *App*, *Vacel1*, *Mmp9* и *SA-b-gal*. Полученные данные анализировали с помощью непараметрических методов статистики (критерии Краскелла-Уоллиса и Данна). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

При морфологическом исследовании головного мозга при старении, а также на фоне длительного потребления  $AlCl_3$  половозрелыми крысами в СА1 зоне гиппокампа увеличилось относительное количество гиперхромных нейронов. По сравнению с половозрелыми животными, получавшими  $AlCl_3$ , у старых крыс наблюдалось увеличение относительного числа гиперхромных нейронов в зонах гиппокампа СА3 и зубчатой извилине. При старении в префронтальной коре головного мозга было обнаружено увеличение уровней экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов *Il-18* и *Tnf- $\alpha$*  и маркеров клеточного старения *Mmp9* и *Sa-b-gal*, а также снижение уровней экспрессии противовоспалительных цитокинов *Il-10* и *Tgf- $\beta$* . По сравнению с контрольной группой при потреблении  $AlCl_3$  у половозрелых крыс наблюдалось повышение уровня экспрессии *Il-18* и снижение *Il-10*; тогда как у старых крыс, потреблявших  $AlCl_3$ , снизились уровни экспрессии белка-предшественника амилоида *App*, участвующего в синаптогенезе и нейропластичности, а также фермента *Vacel1*, вовлеченного в его метаболизм. При старении у крыс Вистар в гиппокампе наблюдается увеличение числа гиперхромных нейронов в зоне СА1, ответственной за процессы кратковременной памяти, а также активация экспрессии мРНК маркеров клеточного старения и провоспалительных цитокинов при

снижении уровня экспрессии противовоспалительных, что соответствует проявлениям инфламэйджинга у людей. При моделировании нейродегенерации длительным потреблением  $AlCl_3$  у половозрелых крыс было выявлено увеличение числа гиперхромных нейронов в зоне CA1, а также умеренное повышение уровня экспрессии провоспалительного цитокина *Il-18* и снижение противовоспалительного *Il-10*, что похоже на проявления инфламэйджинга, однако слабовыраженные. В то же время длительное потребление  $AlCl_3$  старыми крысами привело к значительному увеличению количества гиперхромных нейронов в зоне CA3 и зубчатой извилине гиппокампа, а также снижению экспрессии *App* и *Bace1*. Это может быть следствием истощения ресурсов нейронов и глиальных клеток и их гибели. Потребление  $AlCl_3$  вызвало у половозрелых животных усиление провоспалительного фона и адаптацию к нему, а у старых - дезадаптацию и более выраженные нейродегенеративные процессы вследствие присутствия большого количества сенесцентных клеток и провоспалительного фона инфламэйджинга. Таким образом, моделирование нейродегенерации следует проводить на старых особях, так как их провоспалительный старческий фенотип в большей степени соотносится с процессами, происходящими у пожилых людей.

## НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ УСВОЕНИЯ НОВЫХ СЛОВ У ДЕТЕЙ С ЗАДЕРЖКОЙ РЕЧЕВОГО РАЗВИТИЯ

Сизых А.А.<sup>1</sup>, Шапошникова А.Ф.<sup>2</sup>, Ребрейкина А.Б.<sup>1,2</sup>

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

*2 НПЦДП ДЗМ, Москва*

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

**Ключевые слова:** задержка речевого развития, усвоение слов, вызванные потенциалы

Дети начинают овладевать языком с раннего возраста. Показано, что маленькие дети способны выучить слово и его значение всего после нескольких предъявлений слова с его референтом (например, реальным объектом). Задержка речевого развития нередко сопровождается сниженным словарным запасом, что может быть связано с трудностями формирования связей между словом и его референтом. В настоящей работе мы хотим исследовать нейрофизиологические характеристики усвоения новых слов у детей с различной тяжестью речевых нарушений.

В эксперименте приняли участие 30 детей без интеллектуальных нарушений от 3 до 8 лет (mean=5.52, SD=1.31) на базе НПЦДП ДЗМ. Данные 5 детей были исключены из анализа из-за большого числа артефактов в записи ЭЭГ. Уровень речевого развития был оценен логопедом, на основании чего дети были разделены на две группы: с небольшими нарушениями речи (ОНР уровня 3-4) и более выраженными нарушениями речи (ОНР уровня 1-2). Задачей испытуемых было смотреть на изображения на экране и слышать слова. Эксперимент состоял из 10 блоков, каждый блок содержал 3 настоящих слова в паре с их изображениями и 3 псевдослова в паре новыми, придуманными изображениями. Каждая пара картинка–слово(псевдослово) предъявлялась 4 раза в псевдослучайном порядке. При пятом предъявлении каждое слово/псевдослово предъявлялось с изображением, ассоциированным с другим словом/псевдословом из этого блока (неконгруэнтное условие). Всего использовалось 30 слов и 30 псевдослов, состоящих из двух слогов, длиной 5—6 букв. Псевдослова были созданы путем перестановки слогов использованных настоящих слов и изменением 1—2 букв в случае схожести с настоящими словами (например, марна, бикук). Аудиозаписи слов создавались с помощью генератора речи женским голосом. Все слова были выровнены по частотам и по продолжительности звучания (650 мс).

Изображения предъявлялись в течение 2000 мс. Через 900 мс после появления изображения звучало слово. Интервал после исчезновения изображения до появления нового длился 800 мс. Во время эксперимента у испытуемых регистрировались вызванные потенциалы (ВП) с помощью 28-канальной системы Neurotravel с частотой дискретизации 500 Гц, фильтром 0.01—70 Гц. Обработка записей ЭЭГ осуществлялась в программном обеспечении BrainVision Analyzer (BrainVision Products, GmbH, Германия). Данные были отфильтрованы в диапазоне 0.5—30 Гц. Артефакты были удалены с помощью метода независимых компонент (ICA). Записи были сегментированы в интервале -300—1500 мс относительно начала аудиального предъявления слова.

Мы анализировали ВП в ответ на слова и псевдослова при третьем и четвертом предъявлении (конгруэнтное условие) и при пятом предъявлении с неконгруэнтными картинками (неконгруэнтное условие). Была проанализирована средняя амплитуда ВП в интервале 500—1000 мс после начала предъявления слов, который связывают с семантической обработкой слова и памятью, в теменно-затылочных отведениях.

Статистический анализ проводился с помощью программы Statistica 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., California, U.S.). Был применен дисперсионный анализ с повторными измерениями (rmANOVA) с факторами Группа \* Конгруэнтность (конгруэнтное условие vs. неконгруэнтное) \* Тип стимула (слово vs. псевдослово) \* Латеральность (левые электроды vs. срединные vs. правые).

Фактор Группа и его взаимодействие с другими факторами не было значимым.

Было выявлено значимое (на пограничном уровне) взаимодействие факторов Конгруэнтность и Тип стимула  $F(2, 23)=3.37, p=0.052$ ). Дальнейший анализ показал значимые различия ВП между словами и псевдословами в конгруэнтном условии ( $F(2, 23)=4.29, p=0.03$ ). Амплитуда вызванного потенциала была позитивнее на псевдослова, чем на слова. Сопоставление ВП на слова в конгруэнтном и неконгруэнтном условиях показало более положительную амплитуду потенциала в неконгруэнтном условии ( $F(2, 23)=3.74, p=0.04$ ). Сопоставление псевдослов в конгруэнтном и неконгруэнтном условиях выявило значимое взаимодействие факторов Конгруэнтность и Латеральность ( $F(4, 21)=4.07, p=0.01$ ). В неконгруэнтном условии на псевдослова амплитуда была ниже, чем в конгруэнтном условии, в теменно-затылочных электродах центральной линии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что тяжесть речевых нарушений не оказывает влияния на семантическую обработку знакомых и новых слов. Восприятие новых слов после трех-четырёх предъявлений еще отличается от знакомых слов; однако, уже наблюдается реакция на рассогласование слова с картинкой. Это свидетельствует о том, что после четырех предъявлений уже происходит формирование связи слова с его референтом, но еще не в той мере, как у хорошо знакомого слова.

# ВЛИЯНИЕ ПОВТОРНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА ПОВЕДЕНИЕ И ЭКСПРЕССИЮ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ ФАКТОРОВ У КРЫС

*Симоненко С.Д.*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова  
e-mail: [sofi.simonenko@mail.ru](mailto:sofi.simonenko@mail.ru)*

**Ключевые слова:** гипоксия, обучение, мозг, экспрессия, крысы.

Нормобарическая гипоксия (НГ) характеризуется снижением поступления кислорода в организм при нормальном давлении и может приводить к необратимым повреждениям ЦНС. Наиболее яркими маркерами данного воздействия в нейронах являются следующие белки: NIF-1 $\alpha$  – основной транскрипционный фактор, контролирующий ответ клетки на гипоксию, BDNF – протектор нейронов от апоптоза, и GPx4 – основной антиоксидантный фермент головного мозга [1, 5].

НГ может приводить к нарушению памяти и внимания, а также к повышению уровня тревожности у грызунов, что было показано при изучении последствий НГ в различных моделях [2, 4]. Помимо этого, НГ может вызывать нарушение когнитивных функций у пациентов [3], в связи с чем изучение последствий многократного гипоксического воздействия на ЦНС в моделях на животных представляется очень актуальным.

Исследование проводилось на самцах крыс Wistar в возрасте 2 и 4 месяцев, которые были разделены на 2 группы: группа «контроль» и группа «гипоксия», по 10-12 животных в каждой группе. Крыс опытной группы подвергали НГ (8% O<sub>2</sub>) в течение 5 последовательных дней по 2 часа. Затем оценивали поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ), сложном пищевом лабиринте (СПЛ), лабиринте Барнс и в тесте на выработку условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Также определяли уровень экспрессии генов белков NIF-1 $\alpha$ , BDNF и GPx4 во фронтальной коре и в гиппокампе крыс через 0 часов после однократной и после пятидневной НГ: из структур головного мозга выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию и ПЦР-РВ.

Тест ПКЛ выявил статистически значимое снижение количества выходов на край открытых рукавов лабиринта ( $p < 0.05$ ) у 2-месячных крыс группы «гипоксия» по сравнению с контролем, что говорит о повышении уровня их тревожности. Также данный тест выявил влияние возраста крыс на их поведение. У 2-месячных крыс по сравнению с 4-месячными выше уровень исследовательской активности, что выражается в значимом увеличении количества заходов в закрытые рукава ( $p < 0.05$ ), и ниже уровень тревожности – значимо выше число выходов на край открытых рукавов ( $p < 0.05$ ) и на уровне тенденции ниже количество выглядываний из тёмного рукава ( $p = 0.06$ ). Тест СПЛ показал статистически значимое влияние НГ на количество выполненных реакций и латентный период выхода из стартового отсека ( $p < 0.05$ ), а также значимое увеличение числа ошибок и времени выполнения реакции ( $p < 0.05$ ) у 4-месячных крыс, подвергшихся НГ. Это говорит о снижении способности к непространственному обучению у животных опытной группы, причём у 4-месячных более выраженном, чем у 2-месячных. Тест «Лабиринт Барнс» показал ухудшение способности к пространственному обучению после воздействия НГ у 2-месячных крыс, но не у 4-месячных: значимо увеличилось количество ошибок и время выполнения реакции и снизилось количество выполненных реакций ( $p < 0.05$ ). Тест на выработку УРПИ выявил значимое уменьшение времени захода в тёмный отсек и времени, проведённого в светлом отсеке ( $p < 0.01$ ) у 2-месячных животных по сравнению с 4-месячными, что свидетельствует о лучшей выработке УРПИ у 4-месячных крыс. Фактор НГ не влиял на параметры в данном тесте.

Результаты ПЦР-РВ не выявили различий в экспрессии исследуемых факторов в гиппокампе крыс; также не изменялась экспрессия HIF-1 $\alpha$  во фронтальной коре. НГ не влияла на уровень экспрессии GPx-4 во фронтальной коре, однако у 4-месячных животных он оказался выше, чем у 2-месячных. Уровень экспрессии BDNF во фронтальной коре повышался после однократной НГ и адаптивно снижался после многократной у 4-месячных крыс. Такие результаты могут говорить о повышенной активности антиоксидантной системы и путей нейропротекции в мозге 4-месячных крыс.

#### Литература:

1. Coimbra-Costa D. et al. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain. // *Redox Biol.* 2017. 12. P. 216-225.
2. Fan J. et al. Blunted inflammation mediated by NF- $\kappa$ B activation in hippocampus alleviates chronic normobaric hypoxia-induced anxiety-like behavior in rats // *Brain Res Bull.* 2016. V. 122. P. 54-6.
3. Frank F. et al. Migraine and aura triggered by normobaric hypoxia. – *Cephalalgia.* – 2020. – 40 (14). – 1561-1573.
4. Jänicke B., Schulze G. Influence of normobaric hypoxia on learning capacity of different aged rats // *Neurobiol Aging.* 1987. V. 8 (6). P. 495-500.
5. Tasbihgou S.R. et al. Brain changes due to hypoxia during light anaesthesia can be prevented by deepening anaesthesia; a study in rats // *PLoS One.* 2018. V. 13 (2). P. e0193062.

# ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТОЩЕЙ КИШКИ КРЫСЫ В КОНТРОЛЕ И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СИНДРОМА РАЗДРАЖЕННОГО КИШЕЧНИКА

Сорокина Д.М., Шайдуллов И.Ф., Ситдииков Ф.Г., Ситдикова Г.Ф.

Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия

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

**Ключевые слова:** сероводород, синдром раздраженного кишечника, сократительная активность, тощая кишка.

Синдром раздраженного кишечника (СРК), наиболее распространенное заболевание желудочно-кишечного тракта во всем мире, характеризуется болью в животе и нарушением функции кишечника и часто сопровождается беспокойством. Сероводород ( $H_2S$ ) признан новым газовым посредником, который участвует в регуляции различных физиологических и патофизиологических процессов в организме млекопитающих.  $H_2S$  в желудочно-кишечном тракте вырабатывается не только ферментами, но также и сульфатредуцирующими бактериями (SRB). Экспериментальные данные также указывают на общие защитные эффекты  $H_2S$  при заболеваниях, таких как СРК, ВЗК, благодаря его противовоспалительным свойствам.  $H_2S$ , в основном, оказывает расслабляющее действие на гладкие мышцы в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Понимание того, как  $H_2S$  может влиять на кишечник, может помочь нам лучше понять механизм, лежащий в основе такого заболевания, как СРК.

Целью нашего исследования является выявление роли донора сероводорода на сократительную активность тощей кишки крысы в контроле и при моделировании синдрома раздраженного кишечника.

Все эксперименты проведены в соответствии с Директивой Совета Европейских сообществ (86/609/ЕЕС) и одобрены локальным этическим комитетом КФУ (протокол № 8 от 05.05.2015; протокол №33 от 25.11.2021). Эксперименты проводили на крысах возрастом 6-7 недель, где в опытной группе СРК индуцировали путем неонатального разлучения с матерью, который вызывает висцеральную гиперчувствительность у взрослых животных. Сила сокращения сегментов тощей кишки крысы регистрировалась в изометрических условиях на установке фирмы Biopac Systems (США). Регистрация и последующий анализ параметров сокращения препарата проводили с помощью программы AcqKnowledge 4.1. На протяжении всего эксперимента препарат омывался азрированным раствором, температура поддерживалась на уровне  $37^{\circ}C$ . Достоверность различий определяли с помощью парного t-критерия Стьюдента и дисперсионного анализа (ANOVA) с применением теста Бонферрони. Все данные представлены как среднее  $\pm$  ошибка средней. Различия считали достоверными при  $p < 0.05$ . Статистический анализ был выполнен с OriginPro 2015 (OriginLab, США).

В контроле препарат тощей кишки крысы демонстрировал спонтанную активность, при этом среднее тоническое напряжение ( $1.29 \pm 0.09$  г;  $n=19$ ,  $p < 0.05$ ) и средняя амплитуда сокращений ( $0.90 \pm 0.08$ ;  $n=19$ ,  $p < 0.05$ ) у контрольной группы оказалась достоверно выше, чем у группы СРК ( $0.96 \pm 0.06$  и  $0.65 \pm 0.04$ , соответственно;  $n=8$ ).

Для выявления роли сероводорода на сократительную активность тощей кишки крысы использовали его донор – гидросульфид натрия (NaHS). Добавление NaHS в концентрации 200 мкМ приводило к снижению тонического напряжения препарата до 76% (с  $1.2 \pm 0.09$  г до  $0.99 \pm 0.05$  г,  $n=19$ ;  $p < 0.05$ ), амплитуды и частоты спонтанных сокращений - до 43% (с  $0.9 \pm 0.08$  г до  $0.4 \pm 0.06$  г  $n=19$ ;  $p < 0.05$ ) и 80% (с  $29.3 \pm 0.6$  мин<sup>-1</sup> до  $23.4 \pm 1.1$  мин<sup>-1</sup>,  $n=19$ ;  $p < 0.05$ ), соответственно. В группе СРК эффекты NaHS не проявлялись, при этом тоническое

напряжение препарата составило 99% (с  $0.96 \pm 0.06$  г до  $0.95 \pm 0.06$  г), амплитуда и частота спонтанных сокращений составили 106% (с  $0.65 \pm 0.04$  г до  $0.69 \pm 0.04$  г) и 96% (с  $30.7 \pm 0.55$  мин<sup>-1</sup> до  $29.7 \pm 0.46$  мин<sup>-1</sup>), соответственно.

Для стимуляции препарата использовали карбахолин (1 мкМ), вызывающий сокращение гладкомышечных клеток через активацию М — холинорецепторов. Добавление карбахолина в концентрации 1 мкМ в ванночку приводило к резкому увеличению тонического напряжения от уровня контроля, которое достигнув максимального значения, затем снижалось и держалось на уровне плато. Оценивали площадь под кривой (ППК) и амплитуду вызванных карбахолином сокращений. NaHS угнетал сокращение, вызванное карбахолином: ППК и амплитуда сокращения составили 59% (с  $120.7 \pm 6.4$  г\*сек до  $67.01 \pm 3.04$  г\*сек,  $n=37$ ;  $p<0.05$ ) и 64% (с  $2.1 \pm 0.1$  г до  $1.3 \pm 0.08$  г,  $n=37$ ;  $p<0.05$ ), соответственно. В группе СРК вызванные карбахолином сокращения на фоне NaHS были выражены в меньшей степени, чем в контрольной группе: ППК составила 86% (с  $120.3 \pm 10.02$  г\*сек до  $101.3 \pm 7.77$  г\*сек,  $n=8$ ,  $p<0.05$ ), а амплитуда – 89% (с  $2.09 \pm 0.15$  г до  $1.87 \pm 0.16$  г,  $n=8$ ,  $p<0.05$ ).

Таким образом, мы показали, что донор H<sub>2</sub>S в контрольной группе вызывал расслабление препарата тощей кишки крысы, снижая спонтанную активность и вызванные карбахолином сокращения. В группе СРК эффекты NaHS на спонтанные сокращения не проявлялись, а на вызванные карбахолином сокращения были выражены в меньшей степени, что указывает на участие сероводорода в механизмах нарушения двигательной активности желудочно-кишечного тракта при синдроме раздраженного кишечника.

*Исследование поддержано грантом РНФ № 23-75-01027*



## ВЛИЯНИЕ РИФАМПИЦИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В КОРЕ МОЗГА КРЫСЯТ С ПРЕНАТАЛЬНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ АЛКОГОЛЯ

Суханова Д.Д.<sup>1</sup>, Игнатова П.Д.<sup>1</sup>, Ереско С.О.<sup>1,2</sup>, Айранетов М.И.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

e-mail: renovatargo@gmail.com

**Ключевые слова:** нейровоспаление, алкоголь, беременность, мозг, иммунитет.

Пренатальное воздействие алкоголя (ПВА) приводит к развитию нейровоспалительного процесса у плода, что может послужить причиной развития симптомов фетального алкогольного спектра нарушений (ФАСН). Имеются сведения, полученные *in vitro* и *in vivo*, что этанол вызывает изменения в системе toll-подобных рецепторов (TLR), что вносит вклад в активацию путей нейровоспаления, однако на модели ПВА состояние данной системы не изучалось. Рифампицин (Rif) способен снижать уровень провоспалительных медиаторов при различных патологических состояниях нервной системы. Предполагается, что эффект реализуется посредством TLR-сигнализации.

Оценить состояние экспрессии генов системы TLR-сигнализации в височном отделе головного мозга крысят на модели ПВА и произвести фармакокоррекцию рифампицином.

121 Моделирование ПВА осуществлялось посредством полупринудительного потребления самками крыс 15%-го раствора этанола со 2-ой недели беременности до ее окончания. Далее полученному потомству на протяжении семи суток (с 1-го по 7-ой постнатальный день) были выполнены инъекции физ. р-ра (n=4) и Rif (n=7, 50 мг/кг). Всего 7 инъекций. Контрольной группе крысят (n=6, без ПВА) были выполнены инъекции физ. р-ра. Образцы височной доли головного мозга крысят выделялись на 8-е сутки постнатального развития. Суммарная РНК получена с помощью Extract RNA (Евроген, РФ). ОТ выполнена посредством «MMLV RT kit» (Евроген, РФ). Реал-тайм ПЦР проводили в 10 мкл смеси, содержащей SYBR Green MIX (Евроген, РФ), смесь праймеров (BioBeagle, РФ). Данные были посчитаны методом 2 $\Delta\Delta$ CT и статистически обработаны. В качестве критерия достоверности использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты эксперимента показали повышение экспрессии генов *Tlr3* (в 6,10 раза, p<0.05) в височном отделе головного мозга крысят с ПВА на 8-е сутки постнатального развития. Выявлен повышенный уровень мРНК адаптерного белка *Mud88*, фактора транскрипции *Irf3*. Уровень мРНК *Tlr7* и *Irf7* остались без значимых изменений. Инъекции Rif (50 мг/кг) снизили уровень мРНК *Tlr3* (в 6,17 раза, p<0.05), *Mud88* (в 2,63 раза, p<0.05). Кроме того, нами были получены сведения о влиянии ПВА и инъекций рифампицина на уровень экспрессии ряда генов про- (*Il1 $\beta$* , *Ccl2*, *Il6*, *TNF $\alpha$* ) и противовоспалительных (*Il10*, *Il4*, *Il13*, *Il11*, *Tgfb $\beta$* ) цитокинов. Исследование показало наличие изменений в экспрессии генов системы TLR-сигнализации в височном отделе головного мозга крысят на 8-е сутки постнатального развития в модели ПВА. Рифампицин способен вносить изменения в наблюдаемые изменения в системе генов TLR-сигнализации. Учитывая способность рифампицина проникать через ГЭБ, данное соединение представляется перспективным фармакологическим агентом для коррекции патологических изменений в ЦНС, в том числе, вызванных пренатальным воздействием алкоголя.

## ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА МЫШЕЙ ЛИНИИ 5xFAD

*Фортыгина П.А.1,2, Шаймарданов А.М.2, Акимов В.Э.2, Светличный Д.В.2, Антонова О.А.2, Колосов П.М.1, Юдин В.С.2, Балабан П.М.1*

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

*2 Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА России, Москва, Россия*

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

**Ключевые слова:** нейроны, Болезнь Альцгеймера, двухцепочечные разрывы ДНК, гиппокамп.

Функциональная активность нейронов вносит значительный вклад в процессы нейропластичности и адаптации организма к изменяющимся условиям среды, при этом представляет собой неизбежный риск для стабильности клеточного генома. Двухцепочечные разрывы ДНК (DSB) - наиболее серьезная форма повреждений, однако, в ряде исследований была показана активность-зависимая индукция DSB, способствующая транскрипции генов раннего ответа [1]. Нейроны - высококодифференцированные постмитотические клетки и обладают рядом особенностей репарационных процессов. Так, например, репарация DSB по пути гомологичной рекомбинации невозможна в связи с отсутствием неповрежденной матрицы. В исследовании S. Sharma было показано, что эффективность нейрональной репарации DSB *in vitro* по механизму негомологичного соединения концов (NHEJ) зависит от их структуры, при этом эффективность репарации снижается с возрастом [2]. Недавно был выявлен кальций-зависимый механизм репарации DSB с участием комплекса NPAS4–NuA4 [3]. Ряд работ свидетельствует о наличии РНК-зависимой репарации DSB в нейронах [4]. Болезнь Альцгеймера (БА) – социально значимое заболевание, и новые данные свидетельствуют о том, что повышенный уровень формирования DSB и нарушение механизмов репарации ДНК могут играть важную роль в патогенезе нейродегенерации, однако, не установлено, какой из репарационных процессов является ключевым для поддержания геномной стабильности нейронов [5]. При этом гиппокамп – одна из основных структур мозга, в которой значительно выражена нейродегенерация при БА. Все это обуславливает актуальность анализа различий в уровнях экспрессии генов репарационных белков в гиппокампе в контексте терапии нейродегенеративных заболеваний.

Целью данной работы являлась оценка уровня экспрессии генов белков репарации DSB в нейронах дорсального и вентрального гиппокампа. Исследование проводили на самцах мышей линии 5xFAD (6BSJL, 6BSJL-Tg; N=8, n=4) в возрасте старше 8 месяцев. Дополнительно определяли дифференциально экспрессируемые гены (DEG) в разных зонах гиппокампа у больных и здоровых животных. Секвенирование образцов выполняли методом 10x 3' single cell sequencing (sc-RNAseq). Анализ данных проводили на языке R при помощи пакета для анализа scRNA данных SEURAT. Аннотацию данных выполняли с использованием публичных данных секвенирования ядер гиппокампа мышей. Данные были проинтегрированы алгоритмом нелинейного уменьшения размерности UMAP, дифференциальную экспрессию генов оценивали тестом Mann-Whitney U-test. Анализ функционального обогащения генов выполняли с помощью программы ShinyGO 0.77.

По результатам анализа данных sc-RNAseq для всех кластеров нейронов была показана тенденция к увеличению среднего уровня экспрессии для генов репарационных белков: Rad50,

Rad51, Rad52, Rbm14, Tert, Parp1 в образцах гиппокампа 6BSJL-Tg животных ( $p > 0.05$ ). Обратная тенденция была показана для генов: Cibrp, PolQ, Brca1, Npas4, Mre11a ( $p > 0.05$ ).

По результатам анализа функционального обогащения DEG для кластеров нейронов было выявлено, что у животных 6BSJL-Tg в вентральном гиппокампе наблюдается увеличение экспрессии генов, связанных с синаптической передачей сигнала, нейрогенезом и дифференцировкой клеток. У 6BSJL-Tg животных в вентральном гиппокампе значительно снижена экспрессия генов связанных с организацией синапсов и межклеточных контактов, мембранным транспортом ионов и клеточной адгезией. В дорсальном гиппокампе 6BSJL-Tg животных наблюдали изменения в экспрессии генов связанных с фосфолипазным сигнальным путем, угнетением передачи сигнала (LTD), трансмембранным транспортом.

При анализе кластера клеток ассоциированного с возбуждающими нейронами зоны CA3 в дорсальном гиппокампе у 6BSJL-Tg животных наблюдали значимое снижение экспрессии генов субъединицы 2 типа дельта глутаматного ионотропного рецептора (Grid2) и Протокадгерина-15 (Pcdh15) в 2 и более раза по сравнению с 6BSJL животными ( $p < 0,001$ ). Среди всех аннотированных кластеров клеток в вентральном, но не дорсальном, гиппокампе 6BSJL-Tg животных наблюдалось снижение экспрессии гена Транстиретины (Ttr) в 6 раз по сравнению со здоровыми животными ( $p < 0,001$ ). Одна из функций продукта данного гена – взаимодействие с  $\beta$ -амилоидом и ингибирование формирования отложений амилоида. При анализе кластера клеток ассоциированного с возбуждающими нейронами зоны DG в вентральном гиппокампе у 6BSJL-Tg животных наблюдали более чем двукратное увеличение экспрессии гена Дипептидил пептидазы 10 (Dpp10;  $p < 0,001$ ) – продукт данного гена модулирует электрофизиологические особенности и локализацию потенциал-зависимых калиевых каналов. Выявленные гены являются потенциальными мишенями для терапии Болезни Альцгеймера.

123

#### Список источников:

- 1) Madabhushi R. et al. Activity-induced DNA breaks govern the expression of neuronal early-response genes //Cell. – 2015. – Т. 161. – №. 7. – С. 1592-1605.
- 2) Sharma S. Age-related nonhomologous end joining activity in rat neurons //Brain research bulletin. – 2007. – Т. 73. – №. 1-3. – С. 48-54.
- 3) Pollina E. A. et al. A NPAS4–NuA4 complex couples synaptic activity to DNA repair //Nature. – 2023. – Т. 614. – №. 7949. – С. 732-741.
- 4) Bader A. S., Bushell M. DNA: RNA hybrids form at DNA double-strand breaks in transcriptionally active loci //Cell death & disease. – 2020. – Т. 11. – №. 4. – С. 280.
- 5) Asada-Utsugi M. et al. Failure of DNA double-strand break repair by tau mediates Alzheimer's disease pathology in vitro //Communications Biology. – 2022. – Т. 5. – №. 1. – С. 358.

## НОКДАУН ВОДНОГО КАНАЛА AQP4 ВЫЗЫВАЕТ УСИЛЕНИЕ МОТОРНЫХ НАРУШЕНИЙ В МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У КРЫС

*Ханина М.В., Гузеев М.А., Лапина К.В., Кайсманова М.П., Екимова И.В.*

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия  
[khanina\\_milana@mail.ru](mailto:khanina_milana@mail.ru)*

**Ключевые слова:** аквапорин-4, моторные нарушения, nigростриатная система, убиквитин протеасомная система, болезнь Паркинсона.

Болезнь Паркинсона (БП) - прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, до сих пор остающееся неизлечимым. Развитие БП сопряжено с гибелью более половины дофамин (ДА)-ергических нейронов в компактной части черной субстанции (кчЧС) головного мозга, которое приводит к развитию характерных симптомов - постуральной неустойчивости, ригидности, брадикинезии, тремора покоя и другим нарушениям. Известно, что водный канал аквапорин-4 (aquaporin-4, (AQP4)), важнейший участник водного гомеостаза в головном мозге, также вовлечен в процессы очистки паренхимы мозга от различных метаболитов и амилоидогенных белков, способствующих развитию нейродегенеративных заболеваний. Современные данные дают основания полагать, что дисфункция AQP4 может способствовать прогрессированию БП. Цель данного исследования заключалась в том, чтобы выяснить, какое влияние окажет локальное снижение экспрессии (нокдаун) AQP4 в кчЧС головного мозга на прогрессирование моторных нарушений у крыс в лактацетиновой модели БП у крыс.

124 Эксперименты были выполнены на самцах крыс популяции Wistar. Для локального снижения экспрессии белка AQP4 была применена лентивирусная конструкция (LVC), содержащая специфическую AQP4-shRNA (шпилечную РНК) крысы (LVC-AQP4). В предварительно проведенных экспериментах с применением метода Вестерн-блоттинг было установлено, что LVC-AQP4 приводит к снижению содержания целевого белка в кчЧС на 40% через 3.5 недели после введения. Суспензию, содержащую лентивирусные частицы, вводили крысам билатерально в кчЧС. В качестве контроля были введены стерильный PBS и контрольная конструкция LVC-con. Для воспроизведения модели БП животным через 3.5 недели после микроинъекции LVC-AQP4 или контрольных растворов вводили ингибитор протеасом лактацестин (ЛЦ) билатерально в кчЧС. Инъекции осуществляли дважды, с недельным интервалом. Тестирование моторного поведения проводили через 2 недели после второй микроинъекции ЛЦ. Для оценки моторных нарушений нами были использован тест «Открытое поле», позволяющий выявить гипокинезию, акинезию, снижение спонтанной двигательной активности, и тест «Сужающаяся дорожка», позволяющий оценить выраженность сенсомоторного дефицита.

Установлено, что в модели БП у крыс не обнаруживалось значимых изменений общей двигательной активности в тесте «Открытое поле» по сравнению с контрольными крысами. Однако в тесте «Сужающаяся дорожка» у этой группы нами были выявлены признаки развития сенсомоторного дефицита, проявлявшегося увеличением числа оступаний при прохождении бруса. Нокдаун AQP4 приводил к значительному ухудшению качества движений у модельных животных. В тесте «Открытое поле» нами было выявлено уменьшение количества вертикальных стоек и увеличение времени выхода из центра, связанных, по-видимому, с развитием постуральной неустойчивости и ухудшением способности к локомоции. Тест «Сужающаяся дорожка» показал, что 78% крыс со снижением экспрессии AQP4 в условиях ЛЦ-модели оказались не способны пройти по брусу из-за выраженной дисфункции (ригидности)

задних конечностей. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что нокдаун AQP4 в условиях модели БП вызывал усиление моторных нарушений в модели БП. Ранее было установлено, что фармакологическое ингибирование активности AQP4 вызывало усугубление ЛЦ-индуцируемой нейродегенерации в nigrostriatной системе, сопровождавшееся появлением признаков дисфункции тонкой моторики и развития сенсомоторного дефицита в модели доклинической стадии БП [Lapshina et al., 2022]. Мы предполагаем, что усиление моторных нарушений в результате нокдауна AQP4 в модели БП также происходило в результате развития более выраженного нейродегенеративного процесса в nigrostriatной системе.

***Финансовая поддержка: грант РФФИ № 22-25-00607***

## ПРИМЕНЕНИЕ НОВОГО КОМПЛЕКСА ПРОТООРУДИЙНЫХ ЗАДАЧ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ СЕРЫХ ВОРОН

Чеплакова М.А. \*, Смирнова А.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\*e-mail: [mair.biol@gmail.com](mailto:mair.biol@gmail.com)

**Ключевые слова:** Когнитивные способности, наглядно-действенное мышление, протоорудийные задачи, понимание причинно-следственные связи, серые вороны.

При проведении сравнительных исследований когнитивных способностей животных, как правило, встает вопрос о механизмах решения экспериментальных задач. Например, формируются ли в результате обучения лишь условно-рефлекторные ассоциации, которые применимы только к данной конкретной ситуации, либо обучение инициирует более сложные когнитивные процессы, приводящие к пониманию структуры экспериментальной задачи и лежащих в ее основе причинно-следственных связей, что позволяет справляться с любыми новыми ее вариантами. В связи с этим важна разработка комплексов экспериментальных задач, позволяющих оценить механизм их решения.

Для исследования наглядно-действенного мышления животных используют так называемые протоорудийные задачи, в которых орудие заранее совмещено или соединено с приманкой. Ранее мы обнаружили, что некоторые серые вороны (*Corvus cornix L.*) и обыкновенные вороны (*Corvus corax L.*) способны спонтанно, т.е. без длительного обучения, справиться со сложными вариантами протоорудийных задач на подтягивание приманки при помощи веревки (Багоцкая и др., 2010), несмотря на то что орудийная деятельность не входит в видоспецифический репертуар их поведения.

126 Цель нашей работы — разработка нового комплекса протоорудийных задач, применимого для широких сравнительных исследований, и оценка способности серых ворон справляться с ними.

Шести воронам, способным справиться со сложным вариантом классической протоорудийной задачи, в котором приманка размещена напротив конца пустой веревки, предъявили задачу на подтягивание подноса с приманкой при помощи веревки с ограничителем. Через петли на подносе была пропущена веревка, к одному из концов которой был привязан объект (далее — ограничитель), который не давал веревке выскользнуть из петель. В каждой из 30 тестовых проб использовали новый ограничитель. Ни одна из шести ворон не справилась с этой задачей, поэтому далее мы обучили всех птиц ее решению. В качестве ограничителя использовали узел. После завершения обучения повторно провели тест с 30 ограничителями, и с ним справились уже две вороны. Еще две птицы справились с этим тестом после дополнительного обучения с тремя новыми ограничителями.

Ни одна из ворон не справилась со следующим тестом, в котором ограничителя не было — поднос можно было подтянуть только за оба конца веревки одновременно. Именно такую задачу применяют для исследования способности к кооперации у животных (Heaney et al., 2017), однако не было известно, понимают ли животные ее структуру. Четырех ворон удалось обучить решать эту задачу. Для того чтобы выяснить, поняли ли они ее структуру, провели заключительный тест с дополнительной короткой веревкой, размещенной параллельно концам длинной, но не соединенной с подносом. В некоторых пробах все четыре птицы подтягивали поднос за три конца. Анализ тех проб, в которых они подтягивали поднос за два конца, показал, что одна из ворон достоверно чаще (21 из 34,  $p=0,0008$ ) выбирала концы соединенной с подносом веревки, что может свидетельствовать о понимании структуры этой задачи.

Разработанный нами новый комплекс протоорудийных задач дополняет спектр методов, применимых для широких сравнительных исследований наглядно-действенного мышления животных разных видов.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №23-28-00364).*

## ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ МИКРОРНК-155 В ПРИЛЕЖАЮЩЕМ ЯДРЕ И ГИППОКАМПЕ У ДЛИТЕЛЬНО АЛКОГОЛИЗИРОВАННЫХ КРЫС

*Шамаева С.А.<sup>1,2</sup> Ереско С.О.<sup>1,2,4</sup>, Айрапетов М.И.<sup>1,3</sup>, Бычков Е.Р.<sup>1</sup>,  
Лебедев А.А.<sup>1</sup>, Шабанов П.Д.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> *Институт экспериментальной медицины*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет*

<sup>3</sup> *Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова*

<sup>4</sup> *СЗГМУ им. И.И. Мечникова*

*Email: [shamaevasofy@gmail.com](mailto:shamaevasofy@gmail.com)*

**Ключевые слова:** микроРНК, нейровоспаление, этанол, прилежащее ядро, гиппокамп.

Хроническое употребление алкоголя служит причиной биохимических, функциональных и структурных изменений в нервной ткани среди различных отделов головного мозга. Имеются сведения о наличии таких изменений в прилежащем ядре (nucleus accumbens, NAc) головного мозга при длительном поступлении алкоголя в организм и в гиппокампе (Hippocampus, Hipp), однако механизмы, опосредующие эти явления остаются недостаточно изученными. Ряд исследователей отмечают изменения в содержании молекул микроРНК в плазме крови и в ряде структур головного мозга при длительном и остром поступлении алкоголя в организм. МикроРНК (miR) – класс малых некодирующих молекул РНК, которые нацеливаясь на матричные РНК (мРНК) способны влиять на процессы синтеза белка в клетке. Помимо этой общеизвестной опосредованной регуляторной роли, молекулы miR также могут выступать в качестве физиологических специфических лигандов к toll-подобным рецепторам (TLR) и инициировать сигнальные каскады иммунного ответа.

Оценить содержание miR-155 в NAc и Hipp крыс в условиях длительной алкоголизации.

Моделирование хронической алкоголизации осуществлялось посредством внутрижелудочного введения 20%-го раствора этанола (2 г/кг, ежедневно) в течение 1 мес. Образцы мозга изымали на последние сутки алкоголизации. Суммарную РНК выделяли посредством Extract RNA (Евроген, РФ). Полиаденилирование выполнено с помощью поли(А)-полимеразы E.coli (New England Biolabs Inc., США). Обратная транскрипция выполнена с использованием «MMLV RT kit» (Евроген, РФ). ПЦР в реальном времени проводили в 10 мкл смеси, которая включала в себя SYBR Green MIX (Евроген, РФ) и специфические праймеры (BioVeagle, РФ). Данные были посчитаны методом  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ , статистически обработаны.

Длительная алкоголизация крыс в течение 1 мес. привела к снижению уровня miR-155 в 1,88 раза в Hipp. При этом содержание miR-155 в NAc повысилось в 1,41 раза.

Хроническая алкоголизация изменила уровень исследуемой нами молекулы микроРНК в таких структурах головного мозга как NAc и Hipp. В разных структурах сдвиг в содержании miR-155 происходил в разных направлениях. В данный момент объяснить причины наблюдаемого явления не представляется возможным. Дополнительно, из литературных данных известно, что miR-155 может иметь взаимосвязь с сигнальными путями toll-подобных рецепторов (TLR7 и TLR4), которые участвуют в инициации нейровоспалительных событий, развивающихся при хронической алкоголизации. Так, при активации TLR4 наблюдается повышение miR-155 в мышинной микроглии, тогда как у нокаутных по гену TLR4 (TLR4-KO) этого не наблюдается. В дальнейшем представляется интересным изучить эту взаимосвязь в исследуемых нами структурах головного мозга длительно алкоголизированных крыс.



## РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ GLOBUS PALLIDUS КРОЛИКА В СЛОЖНОМ СТИМУЛЬНОМ КОНТЕКСТЕ

*Шамсиев И.Д., Бородачева Ю.В., Крайнев В.Д.*

*Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Москва, Россия  
e-mail: ildarshamsiev.al@gmail.com*

**Ключевые слова** кролик, хроническая имплантация, Globus Pallidus, зоосоциальные стимулы.

Зоосоциальные взаимодействия животных имеют огромное биологическое значение. Для их обеспечения требуется, с одной стороны, система распознавания конспецификов и их специфических состояний, а с другой – система реагирования на эти и другие стимулы собственным поведением. Одна из ключевых ролей в координации моторного аспекта поведения традиционно отдавалась базальным ганглиям, однако исследования показывают, что различные участки такой области, как Globus Pallidus (GP), имеют, помимо собственно моторных связей, также связи и с системами когнитивного контроля и мотивации [Saga, 2017]. Также существует мнение, что эта структура может интегрировать полисенсорную информацию: были продемонстрированы реакции ее нейронов на звуковые стимулы у животного в покое [Zhong, 2014]. Проекции из центральной миндалины во внешний сегмент GP связываются с формированием условного рефлекса страха на звук [Giovanello, 2020]. Были выявлены реакции нейронов GP и на условный стимул, и на инструментальные движения в звуковом инструментальном условном рефлексе [Gardiner, 1992]. Таким образом, Globus Pallidus является интересным объектом для изучения как один из возможных узлов интеграции контекста, в том числе зоосоциального, и управления собственным поведением животного.

Один кролик (“зритель”) был обучен выполнению звукового условного инструментального рефлекса с пищевым подкреплением (выполнение стоек с нажатием на педаль), после чего ему была проведена хроническая имплантация пучка микроэлектродов (NiCr, 18 мкм, 32 проволоки) в правый Globus Pallidus. Затем в серии из 40 20-минутных экспериментов “зритель”, помещенный в ящик-ограничитель с фиксацией головы, наблюдал за выполнением такого же рефлекса обученным кроликом-демонстратором. У “зрителя” регистрировалась электрофизиологическая активность (Intan RHD, частота 30 кГц), поведение “демонстратора” фиксировалось видеокамерой (30 кадров/с). Далее электрофизиологические данные были отфильтрованы, и разряды одиночных нейронов были выделены вручную (Plexon Offline Sorter). В поведении “демонстраторов” были вручную выделены стойки. В связи с неполной фиксацией в течение эксперимента “зритель” совершал резкие движения в произвольные моменты времени, и времена этих событий также были идентифицированы по вызываемым ими высокоамплитудным артефактам в электрофизиологических данных. Положение пучка в мозге было подтверждено post-mortem МРТ. Таким образом, мы получили возможность изучить ответы нейронов Globus Pallidus в условиях сложной стимульной среды, которая включала в себя звуковые стимулы (звуки, подаваемые в качестве УС «демонстратору»), натуралистичные зоосоциальные стимулы (поведение «демонстратора», в частности, стойки), а также в связи с собственной ограниченной моторной активностью.

Мы представляем результаты обработки 7 экспериментов. Нами было идентифицировано 51 юнитов. Из них активность 39 была зарегистрирована во время предъявления всех стимулов, и в связи с собственной активностью “зрителя”. 16 юнитов могут быть отнесены к прототипическим нейронам, хорошо описанным в литературе [Dodson, 2015]. Они имеют сравнительно высокую фоновую частоту разряда (в среднем 20, 30, 50 или 60 Гц). В ответ на собственные движения животного они не реагируют. Вторым типом являются нейроны, чья

активность четко ассоциирована с собственными движениями “зрителя” (16). Такие нейроны являются в целом “молчащими”, однако продуцируют мощные продолжительные вспышки активности во время движений (частота разряда растет в 3-5 и более раз). Паттерн разряда этих нейронов напоминает активность аркипаллидарных нейронов, однако по продолжительности он несколько отличается от описанного в литературе. Наконец, к последнему типу можно отнести нейроны, которые демонстрируют изменение частоты разряда в связи с движениями “зрителя”, но поддерживают определенную частоту разряда и в покое.

Однако наибольший интерес представляет реакция нейронов на звуковую и зоосоциальную стимуляцию. Ответы были обнаружены у 6 нейронов, которые можно разделить на 2 группы: реакция на оба типа стимулов (торможение (N=2)), реакция на стойки (учащение (N=3), торможение (N=1)). Отдельно интересно, что наблюдаемые эффекты ярко проявлялись в периоды повышенной активности нейрона, но те же стимулы не вызывали изменения паттерна разряда во время “молчащих” периодов. Это позволяет сделать предположение, что внешняя стимуляция оказывала скорее модулирующее действие на внутренние процессы “зрителя”.

Таким образом, нами были обнаружены основные типы нейронов Globus Pallidus – прототипические и аркипаллидарные нейроны, – а также охарактеризована их активность в связи с собственными движениями животного. Мы также подтвердили возможность ответов нейронов GP на звуковые стимулы (в нашем случае, ранее значимые для “зрителя”), и продемонстрировали изменение активности нейронов этой структуры на комплексную зоосоциальную стимуляцию (стойки конспецифика), причем в обоих случаях изменения носили модулирующий характер. Полученный результат отражает возможность сложного контекстуального воздействия, в том числе, и зоосоциального, на нейрональные процессы, обеспечивающие собственное поведение у кролика.

## ПАМЯТЬ И ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА IGF2 В МОЗГЕ КРЫС – ПОТОМКОВ ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕССИРОВАННЫХ ОТЦОВ С ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТРЕССОМ В ПЕРИОД СПЕРМАТОГЕНЕЗА

*Шигалугова Е.Д., Холова Г.И., Ордян Н.Э.*

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: [yshigalugova@bk.ru](mailto:yshigalugova@bk.ru)*

**Ключевые слова:** пренатальный стресс, потомки, память, инсулиноподобный фактор роста 2, гиппокамп, неокортекс, крыса.

Ранее нами было показано, что стрессирование самцов отцов в период сперматогенеза проявляется у их потомков самцов, но не самок, в изменении памяти, что сопровождалось снижением экспрессии гена инсулиноподобного фактора роста 2 (Igf2) в ряде структур головного мозга. Известно, что пренатальный стресс приводит к различным нарушениям у половозрелых самцов крыс, увеличивая стрессорную реактивность и чувствительность к травматическому стрессу. Можно полагать, что дополнительный стресс у самцов, родившихся от стрессированных во время беременности матерей, может оказывать более значительное влияние на память их потомков.

Цель настоящего исследования состояла в изучении выявления влияния дополнительного травматического стресса (парадигма «стресс-рестресс») в период сперматогенеза пренатально стрессированных самцов крыс, на память и экспрессию гена Igf2 в мозге их потомков обоего пола.

131 Память потоков изучали с использованием теста реакция пассивного избегания (РПИ). Экспрессию гена Igf2 в гиппокампе и неокортексе исследовали методом ПЦР в реальном времени.

Установлено, что дополнительное стрессирование пренатально стрессированных самцов до спаривания с интактными самками ухудшало память в тесте РПИ и длительность ее сохранения, а также снижало экспрессию гена Igf2 в исследованных структурах мозга их потомков обоего пола. Мы полагаем, что более выраженное влияние стресса отца на исследованные нами функции связано с повышенной и длительной стрессорной реакцией пренатально стрессированных самцов, в том числе, и в ответ на травматический стресс в парадигме “стресс-рестресс”.

Сделано заключение, что пренатальный стресс у самцов отцов способствует ухудшению памяти и снижению экспрессии гена Igf2 в мозге их потомков, если таких самцов дополнительно подвергали травматическому стрессу до спаривания.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ, НАПРАВЛЕННОГО НА ПРЕДМЕТЫ, У ГРЫЗУНОВ РАЗНЫХ ВИДОВ

Юрин А.М.

МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

E-mail: [yurin988@yandex.ru](mailto:yurin988@yandex.ru)

**Ключевые слова:** исследовательское поведение, мышевидные грызуны, открытое поле.

В условиях естественной среды высокое значение имеют реакции животных на неизвестные для них объекты, поскольку от этого зависит их выживание. Кроме свойств самих объектов, на соответствующее поведение влияют также биология видов и среда их обитания. От этого может зависеть готовность животного к проявлению исследовательской активности, интерес к конкретным деталям предмета и память о его расположении в пространстве. Предлагаемый нами новый вариант экспериментальной задачи с использованием стандартизированных предметов позволяет количественно и качественно оценить индивидуальные и групповые поведенческие проявления, связанные с исследовательской активностью грызунов двух видов, малой лесной (*Sylvaemus uralensis*) и полевой (*Apodemus agrarius*) мышей, направленной на пары объектов с различными отличающимися свойствами. В работе использовали только самцов, 17 особей малой лесной мыши и 14 особей полевой мыши, отловленных живоловками на территории Звенигородской биостанции МГУ в летний период. Перед экспериментом животных адаптировали к условиям клеточного содержания не менее недели. Используемые животные значительно отличались по биологии и местообитанию [1, 2]: в лесу или на травянистых участках поймы.

Задача представляет собой вариант открытого поля. Метод «открытого поля» был разработан К. Холлом [3] и в настоящее время повсеместно применяется в лабораториях по всему миру [4]. В данном варианте используется арена с бортами белого цвета высотой 59,5 см, покрытыми антибликовым покрытием. Нижняя поверхность арены длиной 80 см и шириной 40 см разделена на следующие зоны: круглые зоны предметов 1 и 2, коридор между зонами предметов, пристеночное пространство. Расстояние между центрами зон предметов и, соответственно, самими предметами, исследуемыми грызунами, составляет 40 см. Видеозапись взаимодействия с объектами проводится крупным планом на видеокамеру с частотой регистрации 25 кадров/с. Арена дополнительно освещена, над зонами предметов на высоте 160 см подвешены лампы 40 W с рассеивателями. Объекты, предъявляемые животным, представляют собой 6 пар фигур из деталей конструктора Lego, высота фигур от 3,1 до 7,8 см. В каждой паре одна из фигур отличается от другой только по одному характерному признаку: высота, наличие или отсутствие отверстия, наличие или отсутствия узора в виде глаз, цвет (белый/чёрный), форма (гладкая конусовидная или ребристая кубическая). Эти признаки представляют основные возможные элементы биологически значимых зрительных и осязательных характеристик объектов.

Проведение эксперимента занимает 4 дня, первый из которых отводится на знакомство животных с ареной без предметов в течение 5 минут. В следующие три дня животным предъявляют пары предметов, каждый раз новые, которые для каждой особи выбираются в псевдослучайном порядке. Один из них ставится в 1-ю зону предмета, а другой — во 2-ю. В день животное участвует в двух попытках по восемь минут с интервалом между ними в пять минут. Таким образом, общее число попыток для одного животного соответствует числу пар предметов. Перед каждой попыткой поверхность арены и предметы последовательно обрабатывались водой и 60% раствором этилового спирта.

Особенностью представленной экспериментальной установки является использование легко воспроизводимых предметов с явно заданными значимыми характеристиками, что достаточно редко встречается в профильной литературе [5, 6]. Кроме того, впервые с использованием этой задачи нами была изучена исследовательская активность и проведено её сравнение у грызунов, различающихся по биологии.

Полученные видеофайлы обрабатывались в замедленном и покадровом режимах. В первую очередь оценивали особенности поведения животных при взаимодействии с предметами. В частности, отмечали длительность пребывания грызунов в зонах предметов из представленной пары, количество взаимодействий животного с предметами, таких как прикосновение к ним, прыжки на предмет и с него, стойки около и на предмете и т.д. Помимо вышеупомянутых характеристик, также регистрируются и оцениваются вспомогательные показатели, такие как количество стоек с опорой и без опоры вне зон с предметами, количество прыжков, длительность эпизодов груминга и замирания. Также для открытого поля без предметов измеряются длительность и расстояние пробежек, скорость грызунов в различных зонах поля, в частности, в центре и в пристеночном пространстве. Вспомогательные показатели позволяют оценить различные аспекты состояния животного, такие как общий уровень двигательной активности и уровень страха животного. Это косвенно позволяет оценивать баланс между стремлением к изучению новой территории животными и неохобией.

С помощью измеренных поведенческих показателей, связанных непосредственно с исследованием новых для грызуна предметов, можно оценить предпочтение того или иного предмета из пары (индекс предпочтения, являющийся долей времени, проведённого животным в зоне одного предмета из пары, от общего времени для двух зон), преимущественное исследование тех или иных пар предметов, реакцию на замену предметов в следующей попытке, в том числе различия в этой реакции для попыток, разделённых кратким или длительным периодом времени. Зоны, в которых находились длительно исследуемые животным предметы с высоким индексом предпочтения, могут запоминаться животным, и в дальнейшем также оказывать влияние на предпочтение в следующей попытке. В ходе уже проведённых исследований активности грызунов из природных популяций показано наличие межвидовых различий в исследовании предметов определённых типов, а также в выраженности различных вспомогательных характеристик поведения.

Таким образом, данный экспериментальный подход при помощи ряда регулируемых и стандартизированных условий позволяет получать большой массив разнообразных поведенческих данных и оценивать уровень исследовательской активности по отношению к предметам с различными свойствами, реакцию животных на новизну, память о расположении предпочтительных предметов, а также сравнивать особенности поведения у грызунов различных видов и его закономерности, связанные с различными когнитивными процессами.

***Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, проект №23-Ш03-02.***

Литература

1. Флинт В.Е., Чугунов Ю.Д., Смирин В.М. Млекопитающие СССР // М.: «Мысль». 1970.
2. Крускоп С.В. Звери. Атлас-определитель млекопитающих средней полосы России // М.: «Фитон XXI». 2015.
3. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination measures of individual differences in emotionality // J. Comp. Psychol. 1934. V. 18. P. 385-403.
4. Gould, T.D., Dao, D.T., Kovacsics, C.E. The Open Field Test. In: Gould, T. (eds) Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice // Neuromethods. 2009. V. 42. Humana Press, Totowa, NJ.
5. Heyser C.J., Chemero A. Novel object exploration in mice: Not all objects are created equal // Behav. Biol. 2012. V. 89. P. 232-238

6. Antunes M., Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications// Cogn. Process. 2012. V. 13. P. 93–110

## ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА НА ОКУЛОМОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ПРИ ВИЗУАЛЬНОМ ПОИСКЕ

*Ямпольский А.А.<sup>1</sup>, Скуратова К.А.<sup>2</sup>*

*1 Санкт-Петербургский государственный университет*

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

*e-mail:AntonYamp11@gmail.com*

**Ключевые слова:** айтрекинг, предвзятость внимания, депрессивная симптоматика.

135

Феномен предвзятости внимания к стимулам определённого эмоционального спектра при различных эмоциональных расстройствах достаточно хорошо известен (Armstrong T., Olatunji В. О., 2012). Большое количество исследований продемонстрировало, что аффективные расстройства характеризуются предвзятостью внимания к эмоционально окрашенным стимулам. Однако эти исследования в значительной степени опираются на измерения времени реакции. Технология отслеживания глаз, которая позволяет относительно непосредственно и непрерывно измерять явное зрительное внимание, может стать важным дополнением к измерениям скорости реакции. По сравнению с контрольной группой, участники с тревожными расстройствами проявляют повышенную бдительность в отношении стимулов угрожающего характера во время свободного просмотра и визуального поиска и демонстрируют трудности с отвлечением от угрожающих стимулов в задачах на визуальный поиск, но не во время свободного просмотра. Напротив, участник с расстройствами депрессивного круга не отличаются бдительностью в отношении угрозы во время свободного просмотра, но характеризуются сниженной ориентацией на положительные стимулы, а также меньшим по времени удержанием взгляда на положительных стимулах и большим по времени удержанием взгляда на дисфорических стимулах. В то же время исследования, которые ориентированы на поиск закономерностей между глазодвигательной активностью и выраженностью определенных субклинических показателей на «здоровой» выборке относительно малочисленны, хотя это направление исследований имеет большую ценность при разработке диагностического инструментария.

Наше исследование ставило своей целью изучить связь между глазодвигательной активностью и выраженностью субклинических показателей у участников без поставленного диагноза эмоционального расстройства при выполнении задачи зрительного поиска. Согласно нашей гипотезе, выраженность депрессивно-тревожной симптоматики будет отрицательно связана со средним временем до первой фиксации на дисфорических стимулах и положительно связана со средним временем до первой фиксации на позитивных стимулах.

Для оценки выраженности субклинических показателей были использованы: шкала депрессии Бека, опросник генерализованное тревожное расстройство – 7 (GAD – 7), шкала безнадежности Бека, обсессивно-компульсивная шкала Йеля-Брауна. Выборка составила 51 человека (Средний возраст – 23,5). У всех испытуемых было нормальное или скорректированное до нормального зрение, а также на момент исследования отсутствовали какие-либо психические расстройства. Участникам исследования была предложена задача визуального поиска. Инструкция для участника звучала следующим образом: «Вам необходимо будет найти среди всех слов на экране, целевое слово, которое будет вам предъявлено перед основным слайдом. Ваша задача найти его как можно быстрее» Всего было 20 экспериментальных и 5 контрольных стимулов. На каждый экспериментальный стимул было представлено целевое слово и 40 слов дистракторов различной эмоциональной окраски. На контрольных стимулах были представлены только нейтральные слова. Целевые слова как и дистракторы могли быть 4-х

типов: угрожающие, позитивные, нейтральные и дисфорические. Слова были отобраны в определенные категории на основе экспертной оценки. В процессе фиксировалось направление взгляда испытуемых с помощью айтрекера GP3.

Сбор и анализ данных осуществлялись с помощью программного обеспечения Neurobureau. Анализ данных производился с использованием корреляционного анализа в программе SPSS IBM statistics 22.0. Мы обнаружили следующую статистически значимую взаимосвязь - чем выше безнадежность тем больше среднее время до первой фиксации на позитивных стимулах (0,394,  $p = 0,007$ ). Сниженная ориентация на позитивные стимулы у участников с более высокими баллами по шкале безнадежности Бека согласуется с исследованиями, которые мы приводили ранее. Выраженность депрессивных черт снижает чувствительность системы внимания к позитивным стимулам, что согласуется с наиболее часто упоминаемым фактором, специфичным для депрессии, низким положительным аффектом (Clark I. A., Watson D., 1991), который включает в себя трудности с получением удовольствия и пониженную чувствительность к вознаграждениям. Интерес, также представляет то, что мы не обнаружили предвзятости внимания к дисфорическим стимулам у участников с высокими значениями по опросникам депрессивной симптоматики. Таким образом, наша гипотеза является частично подтвержденной. В дальнейшем планируется рассмотреть также взаимосвязь выраженности субклинических показателей с другими характеристиками глазодвигательной активности таким как: общее время просмотра, количество саккад и т.д. В будущем полученные данные могут быть применены для разработки объективных методов диагностики с использованием метода отслеживания движений глаз.