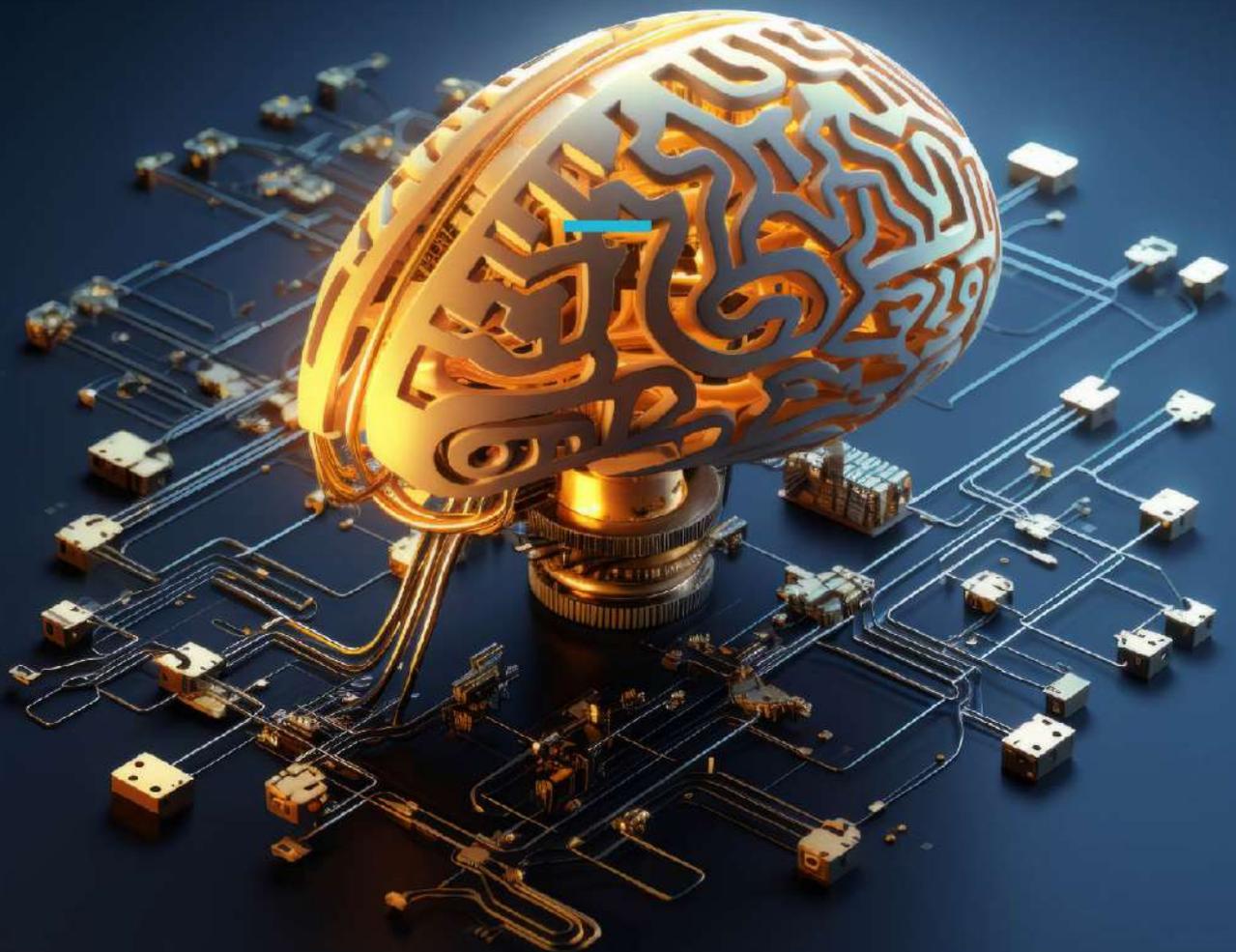


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.И. ПИРОГОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»
(ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России)

LIFT

ШКОЛА МОЛОДОГО НЕЙРОТЕХНОЛОГА

ТЕЗИСЫ УЧАСТНИКОВ КОНФЕРЕНЦИИ
(26-27 апреля 2024 года)



Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Российский национальный исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации»
(ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России)

LIFT
ШКОЛА МОЛОДОГО
НЕЙРОТЕХНОЛОГА

Тезисы участников конференции
(26–27 апреля 2024 года)

Текстовое электронное издание

Москва
Квант Медиа
2024

УДК 004.032.26

ББК 16.632

Л64

Л64 **LIFT Школа молодого нейротехнолога: тезисы** участников конференции (26–27 апреля 2024 г.); ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова. — Москва: Квант Медиа, 2024. — 182 с. — Загл. с титул. экрана. — Текст: электронный.

ISBN 978-5-6047449-7-0

На конференции в рамках «LIFT Школа молодого нейротехнолога» 26-27 апреля 2024 г., посвященной медицинским нейротехнологиям, собрались работы 55-ти студентов, аспирантов, ординаторов и молодых ученых из различных образовательных и научных организаций России, а также областей нейронаук — таких как нейробиология, нейромедицина, психофизиология и нейроинженерия. Участники выступали с устными и постерными докладами, и тезисы их работ представлены в данном сборнике. Материалы сборника освещают вопросы генетических основ нейрогенеза, проблемы выявления новых аспектов нейродегенеративных заболеваний, включают поведенческие модели для исследований хронических заболеваний, психиатрических болезней и действия фармакологических веществ. В работах используются подходы нейровизуализации для выявления изменений в работе мозга после перенесенных заболеваний и выяснения когнитивных функций мозга, а в сочетании с методами неинвазивной стимуляции мозга создаются методики, которые можно будет использовать для нейрореабилитации. Наконец, с успехом применяются инженерные подходы для создания сложных *in vitro* модельных клеточных систем, приближенных к *in vivo* условиям организма, и для конструирования электродов для регистрации сигналов мозга и нейровизуализации.

Материалы конференции будут полезны студентам-врачам, биологам и инженерам, молодым ученым и исследователям, чьи интересы лежат в области медицинских нейротехнологий, фундаментальной нейробиологии и психофизиологии.

УДК 004.032.26

ББК 16.632

Системные требования:

Internet Explorer 7, 8, 9 или 10; Firefox Extended Support Release; Chrome.

ISBN 978-5-6047449-7-0

© Коллектив авторов, 2024

© ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 2024

© Оформление. ООО «Квант Медиа», 2024

СОДЕРЖАНИЕ

СЕКЦИЯ «ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НЕЙРОБИОЛОГИЯ»

Д. Г. Валиева, М. В. Нагаткина, О. А. Недогреева БЛОКИРОВАНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЗАЩИЩАЕТ СТРУКТУРУ ГИППОКАМПА ОТ НЕГАТИВНЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА.....	12
А. П. Перова, В. А. Гольц, А. Р. Ислентьев, А. Д. Ежова, В. О. Ефимова, Л. Ю. Скрипчак, Г. П. Косякова, Е. Р. Бычков ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОПЕПТИДА КИССПЕПТИНА-10 НА ПОЛОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ	17
А. Е. Логашкин, В. М. Силаева, А. Р. Мамлеев, В. Р. Ситдикова, М. Г. Минлебаев ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ДЕКСМЕДЕТОМИДИНА ГИДРОХЛОРИДА НА РАЗВИВАЮЩУЮСЯ ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ НОВОРОЖДЕННЫХ ГРЫЗУНОВ <i>IN VIVO</i>	20
В. Р. Ситдикова, В. М. Силаева, А. Е. Логашкин, А. Р. Мамлеев, М. Г. Минлебаев ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ ХЛОРНЫХ ИОНОВ ВНУТРИ КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	23
В. М. Силаева, В. Р. Ситдикова, А. Е. Логашкин, А. Р. Мамлеев, М. Г. Минлебаев РЕГИСТРАЦИЯ АКТИВНОСТИ С ОДНОГО НЕЙРОНА МЕТОДОМ PATCH CLAMP ВО ВРЕМЯ ВЫЗВАННОЙ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ А КТИВНОСТИ <i>IN VIVO</i>	26
А. Б. Исаев, Д. С. Кульбацкий, М. Л. Бычков, А. А. Андреев-Андриевский, Е. Н. Люкманова РОЛЬ ТРЕХПЕТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА LYPD6A И LYPD6B В КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ	29
Т. В. Полякова, Г. Д. Миронова, В. П. Медведева, И. В. Булгин, В. В. Миронов, Н. В. Хмиль, М. Ю. Чемакина, Н. В. Хундерякова ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У КРЫС	32

О. В. Надей, Н. И. Агалакова МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ФТОРА НА КЛЕТКИ ГИППОКАМПА КРЫС, СВЯЗАННЫЕ СО СНИЖЕНИЕМ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ.....	35
В. А. Гольц, А. П. Перова, Е. Р. Бычков, Г. П. Косякова КИССПЕПТИН 10 ВЛИЯЕТ НА ПОЛОВУЮ МОТИВАЦИЮ САМЦОВ КРЫС ПОСЛЕ СТРЕССА.....	38
М. В. Карибьянц, П. М. Балабан, А. Б. Зюзина ВЛИЯНИЕ RG108 НА ФОРМИРОВАНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПОТЕНЦИАЦИИ ВПСР ПРЕМОТОРНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ У ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ <i>HELIX LUCORUM</i>	41
А. Д. Шевляков, Н. П. Ильин, Т. О. Колесникова, Н. В. Католикова, С. А. Чекрыгин, Д. С. Галстян, К. А. Демин, А. В. Калув АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ОТВЕТОВ <i>DANIO RERIO</i> ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ISR1В В МОДЕЛИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА	44
Е. О. Грушецкая, А. С. Харламова, О. С. Годовалова, Е. Г. Отлыга, А. Е. Прошина СОЗДАНИЕ ИНФОРМАЦИОННО-СПРАВОЧНОЙ СИСТЕМЫ «АТЛАС РАЗВИТИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА» И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПРАКТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ	47
Х. К. Целис Суэскун, Н. С. Хорева, В. С. Тарабыкин ИНАКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРА PDGFRB В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИВОДИТ К НАРУШЕНИЯМ МИГРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НЕЙРОНОВ	50
А. Е. Филатьева, П. Е. Анисимова, Н. Н. Митина, Р. Маруфиан, В. С. Тарабыкин, Е. В. Кондакова ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ И РОЛИ ГЕНА <i>SPOUT1</i> В РАЗВИТИИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА.....	53
Н. О. Лощинина, К. Д. Пшеницына, Е. С. Прокопенко, О. В. Надей ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ NMDA И AMPA РЕЦЕПТОРОВ В ВЕНТРАЛЬНОМ И ДОРСАЛЬНОМ ГИППОКАМПЕ КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ПРИ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОМ СОСТОЯНИИ	56

А. А. Стаханова, О. Г. Воскресенская ВЛИЯНИЕ РАННЕГО НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ОРИГИНАЛЬНОГО ТЕТРАПЕПТИДА АС-D-MPRG НА СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС	59
А. В. Горская ВЛИЯНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА НА ОБОНЯНИЕ У КРЫС ЛИНИИ W1STAR.....	62
А. В. Горбова, А. В. Михель, А. Д. Щербицкая, С. К. Бочковский, В. А. Дудина, В. А. Пода ТРАНСПОРТЁРЫ SNAT-1 И SNAT-2, МТОРС И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ.....	65
А. Д. Буглинина, Т. О. Колесникова, А. М. Москаленко, А. Н. Икрин, Н. О. Прохоренко, Д. С. Галстян, А. В. Калуев ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНИЕ <i>DANIO RERIO</i>	68
Н. О. Прохоренко, В. Д. Рига, А. Э. Махортых, Т. О. Колесникова, А. В. Калуев АНКСИОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА МУХОМОРА (<i>AMANITA MUSCARIA</i>) НА ЗЕБРАДАНИО (<i>DANIO RERIO</i>)	71
Э. Д. Гатаулина МОДУЛЯЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫХ АМРА РЕЦЕПТОРОВ АЗОБЕНЗОЛ-СОДЕРЖАЩИМ ПРОИЗВОДНЫМ СПЕРМИНА.....	74
М. С. Ланцова, М. С. Осетрова, О. И. Ефимова, Н. А. Аниканов, А. И. Митина, Д. А. Сенько, Е. А. Стекольников, Е. Е. Храмева, Ф. Е. Хайтович СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ПЯТИ РЕГИОНОВ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И ПРИМАТОВ	77
А. О. Моторина, М. С. Гавриш, С. А. Тутукова, В. С. Тарабыкин ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНА SH3GL2 В НЕЙРОГЕНЕЗЕ.....	80
В. А. Дзряян, О. В. Трегубова, А. А. Лебедева ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗА 3 КАК РЕГУЛЯТОР ГИБЕЛИ КЛЕТОК СПИННОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ КРЫСЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АКСОТОМИИ	83

А. Н. Яковлев, М. В. Ублинский, А. В. Манжурцев, П. Е. Меньщиков, Т. А. Ахадов ПРОТОННАЯ МРС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БЫСТРЫХ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЕЙ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЕ	86
А. В. Михель, А. В. Горбова, В. А. Дудина, В. А. Пода, С. К. Бочковский, А. Д. Щербицкая ОЦЕНКА УРОВНЕЙ МАРКЕРОВ АУТОФАГИИ, НЕЙРОТРОФИНОВ И КАСПАЗЫ-3 В МОЗГЕ ПЛОДА В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ	89
Н. О. Фокеева, В. Д. Илюшичев, А. А. Кочнева, Е. В. Герасимова ВЛИЯНИЕ ДОНОРА КИСЛОРОДА НА ТАКТИЛЬНУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СОСТОЯНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ КРЫСЫ	92
С. В. Амикишиев, М. М. Котова, Н. О. Прохоренко, А. В. Калуев ЗЕБРАДАНИО КАК МОДЕЛЬ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОГО РАССТРОЙСТВА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА	95

СЕКЦИЯ «КОГНИТИВНАЯ ПСИХОФИЗИОЛОГИЯ»

А. А. Рагимова, М. И. Саламатин, К. Ньюто-Доваль, А. А. Батов, О. И. Шевцов, А. О. Вязмина, М. Феурра ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОВОРОТА ГОЛОВЫ НА РАБОТУ СИСТЕМЫ ЗЕРКАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ	99
В. В. Петров, С. Р. Абрамова, В. А. Матушкина, С. П. Кожевников ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ ЭЭГ В ПРОЦЕССЕ ИМПЛИЦИТНОГО ОБУЧЕНИЯ.....	102
П. А. Сафронов, И. А. Лазаренко, Д. Г. Митюрева, О. В. Сысоева МОДЕЛЬ ЗАТУХАНИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ РЕПРЕЗЕНТАЦИИ АУДИАЛЬНОГО СТИМУЛА У ЧЕЛОВЕКА	105
Д. Г. Мухаммад, Н. В. Сыров, А. С. Медведева, А. Я. Алиева, Л. В. Яковлев, Д. А. Петрова ИЗМЕНЕНИЯ КОРТИКАЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА P300 ПРИ ОДНОСТОРОННЕЙ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ АГНОЗИИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА.....	108
Е. С. Антипушина, М. О. Бойко, Д. А. Сенько, Ф. Е. Хайтович, М. Г. Шараяев ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ОБЪЕДИНЕНИЯ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫХ ДАННЫХ НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ШИЗОФРЕНИИ.....	111
А. О. Насибуллина, Л. В. Яковлев, Н. В. Сыров, А. Я. Каплан, М. А. Лебедев КОРТИКАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОТОРНОГО И ТАКТИЛЬНОГО ВООБРАЖЕНИЯ, ОЦЕНЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ ТМС-ЭЭГ	114
Д. Ю. Травникова, В. С. Шашковская, М. Ю. Кордюкова, Ю. В. Котелевцев, Т. О. Абакумова ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК К ГАНКИРИНУ КАК ЭЛЕМЕНТА КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛИБЛАСТОМ	117

СЕКЦИЯ «НЕЙРОМЕДИЦИНА»

- Э. П. Янышева, Д. П. Кирсова, С. М. Кузнецова, М. М. Пуленова,
М. В. Ширманова, В. П. Баклаушев, Г. М. Юсубалиева
РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ФОРМИРОВАНИИ
МИКРООКРУЖЕНИЯ ГЛИБЛАСТОМЫ 121
- А. Юсеф, Е. А. Лунев, А. А. Карань, М. В. Бардина
РАЗРАБОТКА ПОДХОДА ГЕННОЙ ТЕРАПИИ "SILENCE-AND-REPLACE"
ДЛЯ GNAO1-ЭНЦЕФАЛОПАТИИ 124
- В. В. Миронов, В. П. Медведева, Н. В. Хмиль, Н. В. Хундерякова,
Н. В. Белослудцева, А. Е. Мальков, Т. В. Полякова, И. В. Булгин,
Г. Д. Миронова
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ВОДОРАСТВОРИМОГО
ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ
ПАРКИНСОНА 127
- Д. Е. Нарзаева, Н. А. Колотьева
ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КУЛЬТУРЫ АСТРОЦИТОВ
ПОД ВЛИЯНИЕМ НОВЫХ МОДУЛЯТОРОВ
НИКОТИНАМИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА 130
- Я. С. Козин, П. Л. Наплёкова, А. О. Королев, Н. В. Кудряшов
ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ БАКЛОФЕНА И ПРОИЗВОДНОГО
4-ФЕНИЛПИРРОЛИДОНА ГИЖ-290 НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
МОДЕЛЯХ ОБСЕССИВНО-КОМПУЛЬСИВНОГО РАССТРОЙСТВА 133
- А. С. Медведева, Н. В. Сыров, Я. А. Алиева, Л. В. Яковлев, Д. А. Петрова,
М. А. Лебедев, Г. Е. Иванова, А. Я. Каплан
ИЗМЕНЕНИЕ ЛАТЕРАЛИЗОВАННОГО ПОТЕНЦИАЛА ГОТОВНОСТИ
У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ, ВО ВРЕМЯ ДВИЖЕНИЙ
ЗДОРОВОЙ И ПАРЕТИЧНОЙ РУКОЙ 136
- Т. А. Панкратова
ЧАСТНЫЙ СЛУЧАЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО ПОНТИННОГО МИЕЛИНОЛИЗА 139

Е. Е. Слепцова, А. Р. Хузина, Т. С. Редькин, М. О. Савюк, В. Д. Турубанова АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ МИТОКСАНТРОНА И ТЕТРА(АРИЛ) ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА В КАЧЕСТВЕ ИНДУКТОРОВ ИММУНОГЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ ДЛЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА.....	142
С. А. Синявский, М. Ю. Кордюкова, В. В. Белоусов, Т. О. Абакумова ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АУРАНОФИНА ДЛЯ МОНО- И КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМ И ДРУГИХ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.....	145
С. М. Кузнецова, В. А. Кальсин, В. П. Баклаушев, Г. М. Юсубалиева РАЗРАБОТКА СЛОЖНОЙ ТРЕХМЕРНОЙ МОДЕЛИ ОПУХОЛИ ГЛИОБЛАСТОМЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В КОКУЛЬТИВИРОВАНИИ СО СТРОМАЛЬНЫМИ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ	148
Т. К. Булгаков, В. И. Мещерякова, Е. С. Пешкова, Т. О. Абакумова, М. Ю. Кордюкова, В. В. Белоусов ИНГИБИРОВАНИЕ ТИОРЕДОКСИНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИВОДИТ К СНИЖЕНИЮ УСТОЙЧИВОСТИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ К ХИМИОТЕРАПИИ	151
Е. А. Архиреева, С. М. Кузнецова, Г. М. Юсубалиева, В. П. Баклаушев ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОФИНА-3 НА ПРЯМО РЕПРОГРАММИРОВАННЫЕ НЕРВНЫЕ КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИКИ И КЛЕТКИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SK-N-BE(2)	154
А. В. Циммерман, М. Ю. Кордюкова, М. А. Сорокина, Д. Ю. Травникова, В. В. Белоусов, Т. О. Абакумова ПОТЕНЦИАЛ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ E2H2 В КАЧЕСТВЕ ТАРГЕТНОГО ГЕНА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПОДХОДОВ К ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ С ПОМОЩЬЮ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ.....	157
О. И. Сазонов, И. З. Джалагония, А. С. Седов ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВИРОВАННЫХ ТРАКТОВ ОТ СТИМУЛЯЦИИ ГЛУБИННЫХ МОЗГОВЫХ СТРУКТУР ЧЕЛОВЕКА В ОБЛАСТИ БЛЕДНОГО ШАРА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ДИСТОНИИ	160

СЕКЦИЯ «НЕЙРОИНЖЕНЕРИЯ И НЕЙРОИНТЕРФЕЙСЫ»

В. С. Лагунов, С. В. Жирнов, С. Ш. Каршиева, Т. А. Тунеков, Ф. С. Сенатов КО-КУЛЬТИВАЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК РЫБЫ DANIO RERIO В ГРАДИЕНТ-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ.....	164
Т. А. Тунеков, С. В. Жирнов, В. С. Лагунов, Ф. С. Сенатов РАЗРАБОТКА РАСТЯЖИМЫХ ЭЛЕКТРОДНЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИИ И ИНВАЗИВНЫХ НЕЙРОИНТЕРФЕЙСОВ	167
В. И. Жуков, Г. О. Молоканов, С. О. Кириченко, О. А. Москалюк ГИБКИЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СИЛИКОНА И УГЛЕРОДНЫХ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫХ НАПОЛНИТЕЛЕЙ ДЛ Я НЕЙРОУСТРОЙСТВ.....	170
А. С. Баранова, А. Р. Илясов, С. М. Деев ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ 3D-БИОПЕЧАТНЫХ КОНСТРУКЦИЙ СЛОЖНОЙ ФОРМЫ С ПОМОЩЬЮ ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО УДАЛЕНИЯ СФЕРОИДОВ	173
М. С. Землянсков, А. А. Гладков, Я. И. Пигарева, В. Н. Колпаков, В. Б. Казанцев, И. В. Мухина, А. С. Пимашкин ТРЕХКАМЕРНЫЙ МИКРОФЛЮИДНЫЙ ЧИП ДЛ Я ИЗУЧЕНИЯ ИНТЕГРАЦИИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК В НЕЙРОНАЛЬНЫЕ СЕТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК	176
Р. К. Калимуллин, Е. С. Антипушина, М. П. Кнышенко, Н. В. Сыров РАЗРАБОТКА АППАРАТНО-ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА ДЛ Я ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ МАГНИТНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ.....	179

**СЕКЦИЯ
«ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ
НЕЙРОБИОЛОГИЯ»**

БЛОКИРОВАНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЗАЩИЩАЕТ СТРУКТУРУ ГИППОКАМПА ОТ НЕГАТИВНЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-12-16

Д. Г. Валиева^{1,2}, М. В. Нагаткина³, О. А. Недогреева²

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

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

³Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотех-
нологии — МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия

E-mail: Valieva_d@mail.ru

Аннотация. Исследование анализирует влияние мифепристона, антагониста глюкокортикоидных рецепторов, на морфологические изменения в гиппокампе крыс после инсульта, вызванного окклюзией средней мозговой артерии. Результаты подчеркивают потенциал мифепристона как защитного препарата, способного уменьшать структурно-функциональные нарушения в постишемическом периоде.

Ключевые слова: фокальная ишемия мозга, гиппокамп, глюкокортикоидные рецепторы, мифепристон, пирамидный слой, астроциты, микроглия.

Согласно информации Всемирной организации здравоохранения [1], инсульт, представляющий собой острое нарушение мозгового кровообращения, занимает второе место среди наиболее частых причин смерти на глобальном уровне. Последствия инсульта могут быть разнообразными. Помимо физических нарушений, у пациентов в первые месяцы часто развиваются когнитивно-эмоциональные нарушения, включая деменцию, нарушения речи, депрессию и другие [8–10]. Учитывая ключевую роль гиппокампа в когнитивных и эмоциональных процессах [11], структурные и функциональные нарушения в этой церебральной структуре могут провоцировать ухудшение психоэмоционального состояния и когнитивных способностей пациентов.

Стресс является одним из ключевых факторов патогенеза инсульта, вызывая высвобождение чрезмерного количества глюкокортикоидов. Аномальная активация глюкокортикоидных рецепторов, плотность которых довольно высока в гиппокампе, запускает процессы, приводящие к нейровоспалению, последующим нарушениям нейрогенеза и нейродегенерации гиппокампа [2]. Ранее работы Лаборатории функциональной биохимии нервной системы Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН показали, что через три дня после окклюзии средней мозговой артерии (ОСМА) у крыс наблюдались повышенные уровни кортикостерона и интерлейкина- 1β в сыворотке крови, накопление кортикостерона в гиппокампе, увеличение уровня интерлейкина- 1β в ипсилатеральном гиппокампе [6; 7]. Высвобождение кортикостерона и интерлейкина- 1β , а также накопление их в гиппокампе может в перспективе способствовать развитию нейровоспаления и опосредованному им повреждению этого отдела мозга. Это позволяет предположить, что отдаленное повреждение и дисфункция гиппокампа, вызванные стрессом и связанные с глюкокортикоидами, являются ключевым звеном в патогенезе когнитивных и психических расстройств после фокальной ишемии мозга.

В работе ишемический инсульт моделировали у крыс методом ОСМА по Koizumi [3]. Морфологические исследования проводили только у животных с выраженным неврологическим дефицитом и с подтвержденными последствиями инсульта в виде очага инфаркта в коре больших полушарий и стриатуме. Оценку неврологического дефицита проводили с использованием нескольких методик, направленных на анализ физиологических нарушений и поведенческих изменений, вызванных ишемическим повреждением мозга [4; 5]. Исследовали три группы животных: ложнооперированные животные, получавшие раствор полипропиленгликоля (ПГ) и две группы животных с ОСМА, одной из которых вводили ПГ, а другой — раствор антагониста глюкокортикоидных рецепторов мифепристона (МФ) в ПГ. Раствор МФ в ПГ вводили в дозе 20 мг/кг массы тела за сутки до, в день операции и в течение трех дней после операции. Через 24 часа после последней инъекции отдельные группы крыс ($n = 4 - 5$) анестезировали, перфузировали 4% формальдегидом. Срезы мозга окрашивали по Ниссли и иммуногистохимически на наличие белков апоптоза (Bax), маркеры астроцитов (GFAP) и микроглии (Iba-1).

Фокальная ишемия мозга приводила к развитию выраженного неврологического дефицита, который восстанавливался почти

полностью в течение первых двух недель. МФ оказывал очень умеренное воздействие на развитие последствий ишемии, что выразилось в менее сильных неврологических нарушениях, наблюдаемых через три дня после перенесенного воздействия. Ишемическое воздействие не приводило к значимому изменению плотности пирамидных клеток в гиппокампе. Не было найдено различий и между полушариями, за исключением небольшой тенденции в области СА3. В зубчатой фасции наблюдалось позитивное воздействие МФ на плотность гранулярных клеток, которое проявилось в восстановлении их численности до уровня контрольной группы. В результате иммуногистохимической реакции также не удалось выявить в гиппокампе признаков активации запрограммированной гибели клеток и увеличения экспрессии проапоптозного белка Вах, который в большом количестве присутствовал в ишемическом очаге, расположенном в неокортексе.

Однако, несмотря на отсутствие значимых изменений в плотности нейронов и экспрессии маркеров апоптотических процессов в клетках, структурные изменения клеток присутствовали. У ложнооперированных животных нейроны пирамидного слоя СА3 в гиппокампе нормально равномерно окрашены, тогда как у ишемических животных, как тех, кто не получал, так и тех, кто получал МФ, встречались и гиперхромные, и вакуолизованные нейроны в обоих полушариях. Это указывает на влияние фокальной ишемии на морфологические особенности клеток гиппокампа, проявляющееся в изменении их структуры. Более того, фокальная ишемия вызывала значимые структурные изменения в пирамидном слое СА1 гиппокампа, проявляющиеся в его дисперсии, а МФ частично защищал от ишемического повреждения.

Ишемический инсульт вызывал системные изменения количества и качества глиальных клеток в гиппокампе. Наблюдалось снижение плотности популяции астроцитов в обоих полушариях и изменение их морфологии. Влияние на плотность клеток микроглии не выявлено, однако отмечены деградация сложности и снижение ветвистости клеток. Введение МФ предотвращало снижение плотности астроцитов и микроглии и способствовало сохранению нормальной морфологии глиальных клеток.

Список литературы

1. World Health Organization. The top 10 causes of death. — <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. (дата обращения: 08.05.2024).
2. Gulyaeva N. V. Biochemical Mechanisms and Translational Relevance of Hippocampal Vulnerability to Distant Focal Brain Injury: The Price of Stress Response // *Biochemistry*. — 2019. — V. 84 (11). — P. 1306–1328.
3. Koizumi J., Yoshida Y., Nakazawa T., Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema. I. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area // *Jpn J Stroke*. — 1986. — V. 8. — P. 1–8.
4. Bederson J. B., Pitts L. H., Tsuji M., Nishimura M. C., Davis R. L., Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination // *Stroke*. — 1986. — V. 17 (3). — P. 472–476.
5. Gulyaeva N., Thompson C., Shinohara N., Lazareva N., Onufriev M., Stepanichev M., Moiseeva Y., Fliss H., Hakim A. M. Tongue protrusion: a simple test for neurological recovery in rats following focal cerebral ischemia // *Journal of neuroscience methods*. — 2003. — V. 125 (1–2). — P. 183–193.
6. Onufriev M. V., Moiseeva Y. V., Zhanina M. Y., Lazareva N. A., Gulyaeva N. V. A Comparative Study of Koizumi and Longa Methods of Intraluminal Filament Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats: Early Corticosterone and Inflammatory Response in the Hippocampus and Frontal Cortex // *Int. J. Mol. Sci.* — 2021. — V. 22. — P. 13544.
7. Onufriev M. V., Stepanichev M. Y., Moiseeva Y. V., Zhanina M. Y., Nedogreeva O. A., Kostryukov P. A., Lazareva N. A., Gulyaeva N. V. A Comparative Study of Two Models of Intraluminal Filament Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats: Long-Lasting Accumulation of Corticosterone and Interleukins in the Hippocampus and Frontal Cortex in Koizumi Model // *Biomedicines*. — 2022. — V. 10. — P. 3119.
8. Olsen T. S. Regional cerebral blood flow after occlusion of the middle cerebral artery // *Acta Neurol Scand.* — 1986 Apr. — V. 73 (4). — P. 321–337.
9. Garcia J. H., Lassen N. A., Weiller C., Sperling B., Nakagawara J. Ischemic stroke and incomplete infarction // *Stroke*. — 1996 Apr. — V. 27 (4). — P. 761–765.

10. Zhao Y., Zhang X., Chen X., Wei Y. Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review) // Int J Mol Med. — 2022 Feb. — V. 49 (2). — P. 15.
11. Виноградова О.С. Гиппокамп и память: монография / О.С. Виноградова; отв. ред. М.Н. Ливанов; Академия наук [АН] СССР. Отделение физиологии. — Москва: Наука, 1975. — 333 с.

BLOCKING GLUCOCORTICOID RECEPTORS PROTECTS THE HIPPOCAMPAL STRUCTURE FROM THE NEGATIVE EFFECTS OF FOCAL CEREBRAL ISCHEMIA

Abstract. The study analyzes the effect of mifepristone, an antagonist of glucocorticoid receptors, on morphological changes in the hippocampus of rats after a stroke caused by occlusion of the middle cerebral artery. The results highlight the potential of mifepristone as a protective drug capable of reducing structural and functional disorders in the post-ischemic period.

Key words: focal cerebral ischemia, hippocampus, glucocorticoid receptors, mifepristone, pyramidal layer, astrocytes, microglia.

ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОПЕПТИДА КИССПЕПТИНА-10 НА ПОЛОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ КРЫС ПРИ СТРЕССЕ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-17-19

А. П. Перова¹, В. А. Гольц², А. Р. Ислентьев³, А. Д. Ежова³,
В. О. Ефимова³, Л. Ю. Скрипчак³, Г. П. Косякова^{2,3},
Е. Р. Бычков^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ),
Санкт-Петербург, Россия

²Институт экспериментальной медицины (ИЭМ), Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский
университет (СПбГПМУ)

E-mail: alpacamr@gmail.com

Аннотация. В нашей работе мы исследовали половое поведение при рестрикционном стрессе, влияние на него кисспептина-10 и эффект кисспептина-10 на концентрации ФСГ, ЛГ и кортикостерона после рестрикционного и витального стрессового воздействия. Мы использовали метод измерения латентного времени подхода самцов к самкам и количество садок для исследования половой мотивации животных и метод конкурентного ИФА для измерения концентраций гормонов в плазме крови. Наше исследование показало усиление половой активности при введении кисспептина-10, увеличение концентрации ЛГ и отсутствие влияния на уровень ФСГ при введении кисспептина-10 и снижение концентрации кортикостерона при внутрибрюшинном введении кисспептина-10 только после витального стресса.

Ключевые слова: нейропептиды, нейрофармакология, нейроэндокринология, кисспептин, половое поведение, рестрикционный стресс, витальный стресс.

Стресс является фактором, влияющим на работу мозга и нарушающим функционирование систем организма. Одним из последствий стресса является нарушение полового поведения, выражающееся в физиологическом и гормональном дисбалансе. Кисспептин — нейропептид, регулирующий половое поведение на уровне ЦНС, который также обладает антидепрессивным дей-

ствием. Кисспептин может стать компонентом для создания новых лекарственных средств, направленных на коррекцию половой дисфункции у человека [1].

Целью нашей работы явилось изучение влияния нейропептида кисспептина-10 на половую мотивацию самцов крыс после рестрикционного и витального стресса. Для исследования воспроизводилась модель рестрикционного и витального стресса (аналогичного ПТСП [2]). Животные разделялись на 7 групп по 6 крыс в каждой. Оценивались поведенческие показатели полового поведения, а также изменения уровня фолликулостимулирующего (ФСГ), лютеинизирующего (ЛГ) гормонов и кортикостерона в сыворотке крови крыс самцов при различных видах стресса и способах введения кисспептина-10 [3].

В результате мы показали, что латентное время подхода самца к самке в группе с острым рестрикционным стрессом после интраназального введения снижалось в среднем до 29,67 секунд по сравнению с контрольными 40,75 секундами (в 1,4 раза), а после интраперитонеального введения до 20,5 секунд (в 2 раза). Только при интраперитонеальном введении значимо возрастал показатель садок на самку — 7 раз, по сравнению с контрольными 2 садками (в 3,5 раза). Анализ концентраций ФСГ в сыворотке крови показал отсутствие значимых различий между группами, получавшими кисспептин-10, и контролем, но при этом концентрация ЛГ у испытуемых групп возрастала. При измерении уровня кортикостерона было выявлено, что интраперитонеальное введение кисспептина-10 снижало концентрацию гормона в 2,2 раза по сравнению с контролем. Для проверки нормальности применялся критерий Колмогорова-Смирнова, для сравнения групп по половому поведению — критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни, для оценки концентраций гормонов — критерии Уилкоксона, t-критерий и ANOVA.

В ходе исследования было выявлено повышение половой мотивации у крыс после интраназального и интраперитонеального введения кисспептина-10 в сравнении с контрольной группой после рестрикционного стресса, выражающееся в снижении латентного времени и увеличении частоты садок, наблюдавшееся только при внутрибрюшинном введении. При интраназальном введении нейропептида мы обнаружили тенденцию к увеличению консуматорной стадии полового поведения. При этом при введении кисспептина-10 ФСГ значимо не менялся, а концентрация ЛГ возрастала, что показывает основную точку приложения нейропептида.

Интраперитонеальное введение кисспептина-10 на фоне витально-го стресса снижало уровень кортикостерона, что говорит о его возможной противострессорной активности.

Список литературы

1. Lebedev A. A. [и др.]. Effects of kisspeptin analogues on the behavior of *Danio rerio*// *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. — 2022. — No 2 (20). — P. 201–210. — DOI: 10.17816/RCF202201-210.
2. Tissen I. [и др.]. Possible role of kisspeptin in testosterone-independent regulation of sexual motivation in male rats// *Georgian Med News*. — 2022. — P. 122–125. — DOI: 10.17816/phbn623033.
3. Magarramova L. A. [и др.]. Kisspeptin is Testosterone independent regulator of Sexual Motivation in Male Rats// *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*. — 2022. — No 1 (10). — P. 131–134. — DOI: 10.18006/2022.10(1).131.134.
4. Tanaka M., Csabafi K., Telegdy G. Neurotransmissions of antidepressant-like effects of kisspeptin-13// *Regulatory Peptides*. — 2013. — No 180. — P. 1–4. — DOI: 10.1016/j.regpep.2012.08.017.

THE EFFECT OF THE NEUROPEPTIDE KISSPEPTIN-10 ON THE SEXUAL BEHAVIOR OF MALE RATS UNDER STRESS

Abstract. In our work, we investigated sexual behavior under restrictive stress, the effect of kisspeptin-10 on it and the effect of kisspeptin-10 on concentrations of FSH, LH and corticosterone after restrictive and vital stress exposure. We used the method of measuring the latent approach time of males to females and the number of mating acts to study the sexual motivation of animals, and the method of competitive ELISA to measure hormone concentrations in blood plasma. Our study showed an increase in sexual activity with the administration of kisspeptin-10, an increase in LH concentration and no effect on FSH levels with the administration of kisspeptin-10 and a decrease in corticosterone concentration with intraperitoneal administration of kisspeptin-10 only after vital stress.

Key words: neuropeptides, neuropharmacology, neuroendocrinology, kisspeptin, sexual behavior, restriction stress, vital stress.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ДЕКСМЕДЕТОМИДИНА ГИДРОХЛОРИДА НА РАЗВИВАЮЩУЮСЯ ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ НОВОРЖДЕННЫХ ГРЫЗУНОВ *IN VIVO*

DOI 10.24412/CL-37228-2024-20-22

А. Е. Логашкин¹, В. М. Силаева¹, А. Р. Мамлеев¹,
В. Р. Ситдикова¹, М. Г. Минлебаев¹

¹ФГАОУ ВО Казанский Федеральный Университет Институт Фундаментальной Медицины и Биологии, г. Казань, Россия

E-mail: anatolijlogaskin@gmail.com

Аннотация. Применение анестезии — необходимая этическая процедура в нейробиологических исследованиях. Ранее широко используемый для этих целей уретан на данный момент имеет ряд ограничений, связанных с его применением. В данном исследовании на модели новорожденных крыс было изучено фармакологическое воздействие перспективного аналога уретана — дексмедетомидина. Наши результаты показали, что дексмедетомидин оказывает выраженное анальгетическое действие, а также слабо модифицирует незрелые сетевые паттерны кортикальной активности.

Ключевые слова: соматосенсорная кора, анестезия, анальгезия, электрофизиология *in vivo*, новорожденные крысы.

Современные исследования в нейробиологии часто нуждаются в использовании анестезии. Среди анестетиков наиболее широко применяется инъекционный анестетик — уретан. В последнее время его использование ограничивается из-за ряда негативных эффектов связанных с его применением. Это требует поиска эффективной замены уретану. Один из потенциальных кандидатов — агонист α_2 -адренергических рецепторов дексмедетомидин гидрохлорид (Декс). Обычно он используется в комбинации с NMDA-антагонистом кетаминном [1; 2], но его индивидуальное влияние на функционирование центральной нервной системы остается практически неизвестным.

Для ответа на данный вопрос мы провели серию экспериментов, в которых дали оценку влиянию Декса на функционирование мозга новорожденных крысят. В процессе проведения исследования было охарактеризовано влияние Декса на параметры спонтанной кортикальной активности, болевую чувствительность и седацию. У новорожденных крысят в естественных условиях в контроле и после введения Декса (33 мкг/кг) или уретана (1 г/кг) проводили регистрацию кортикальной и двигательной активности и тест на анальгезию.

Инъекция Декса оказала меньшее влияния на параметры кортикальной активности по сравнению с уретаном. При этом эффект Декса полностью нивелировался через 25,5 минут. В пределах его влияния мощность кортикальной активности в альфа-бета диапазоне (8–29 Гц) уменьшилась на 14%, в гамма диапазоне (30–70 Гц) на 25%, а непрерывность активности уменьшилась на 48%. При этом уретан оказывал значительное влияния на все три параметра с уменьшением их, соответственно, на 48, 44 и 70%. Регистрация двигательной активности животного показала, что после администрации Декса происходит уменьшение количества движений на 58% с длительностью данного эффекта в 20 минут. После инъекции уретана количество движений уменьшилось на 96%. Администрации Декса и уретана оказывали примерно равный анальгетический эффект, увеличивая время теста на отдергивание хвоста в 1,9 (с 0,92 сек до 1,66 сек) и 2,1 (с 0,92 сек до 1,88 сек) раз соответственно.

Мы продемонстрировали, что Декс, меньше упраздняя кортикальную активность, оказывает сопоставимый с уретаном анальгетический эффекты, при этом сохраняя двигательную активность. Это делает Декс отличным кандидатом на замену уретана для проведения ряда электрофизиологических экспериментов *in vivo*.

**Работа выполнена за счет средств
Программы стратегического академического лидерства Казанского
(Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).**

Список литературы

1. Bajwa S.S. Dexmedetomidine and Ketamine — Comrades on an eternal journey! // Indian Journal of Anaesthesia. — 2021. — V. 65. — No 13. — P. 1. — doi: 10.4103/ija.IJA_216_21.
2. Gupta K., Gupta A., Gupta P., et al. Dexmedetomidine premedication in relevance to ketamine anesthesia: A prospective study // An-

EVALUATION OF THE EFFECTS OF DEXMEDETOMIDINE HYDROCHLORIDE ON THE DEVELOPING CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF NEWBORN RODENTS *IN VIVO*

Abstract. The use of anesthesia is a necessary ethical procedure in neurobiological research. Urethane, previously widely used for these purposes, currently has a number of limitations related to its use. In this study, the pharmacological effects of a promising urethane analog, dexmedetomidine, were studied on a model of newborn rats. Our results showed that dexmedetomidine has a pronounced analgesic effect, as well as weakly modifies immature network patterns of cortical activity.

Key words: somatosensory cortex, anesthesia, analgesia, electrophysiology *in vivo*, newborn rats.

ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ ХЛОРНЫХ ИОНОВ ВНУТРИ КЛЕТОК В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-23-25

В. Р. Ситдикова¹, В. М. Силаева¹, А. Е. Логашкин¹,
А. Р. Мамлеев¹, М. Г. Минлебаев¹

¹Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань, Россия
E-mail: sitdikovavita@gmail.com

Аннотация. Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является основным медиатором, обеспечивающим торможение в нервной системе. Используя крысиную модель, мы исследовали возможные механизмы изменения функциональной роли ГАМК в контрольных и эпилептических условиях. Наши результаты показали, что ГАМК продолжает выполнять роль тормозного медиатора даже при эпилептической активности, несмотря на сдвиг потенциала реверсии для хлора в сторону деполяризующих значений.

Ключевые слова: гамма-аминомасляная кислота, фокальная эпилепсия, 4-аминопиридин, крыса, *in vivo*.

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) играет ключевую роль в торможении нервной системы, модулируя интенсивность тока ионов хлора через мембрану нейрона, что приводит к изменению его мембранного потенциала. В зависимости от направления тока ионов хлора, ГАМК может как тормозить, так и возбуждать нейроны [1]. В условиях низкой концентрации ионов хлора внутри нейрона ГАМК оказывает ингибирующее воздействие, что характерно для взрослого мозга в норме [2]. Однако в *in vitro* исследованиях обнаружено, что во время эпилептиформной активности происходит увеличение внутриклеточной концентрации ионов хлора [3], что может изменить функцию ГАМК с тормозной на возбуждающую. Вопрос о повторении данного явления в *in vivo* условиях остается открытым, и наша цель заключалась в исследовании этого аспекта.

Исследование внутриклеточной концентрации ионов хлора осуществлялось путем оценки функции ГАМК-ергической пере-

дачи как в условиях контроля, так и во время эпилептиформной активности. Для этого проводилась одновременная внеклеточная и внутриклеточная регистрация в конфигурации с сохранением целостности мембраны, что позволило наблюдать открытие и закрытие ионных каналов без изменения внутриклеточной среды. В результате записей были построены вольтамперные кривые зависимости амплитуды анионного тока от различных фиксирующих потенциалов на регистрирующей пипетке. С использованием полученных данных и уравнения Ходжкина-Хаксли были вычислены потенциал реверсии для хлора и мембранный потенциал для клетки, что позволило более детально изучить влияние ионов хлора на функцию ГАМК-ергической передачи в различных условиях.

Наши предварительные результаты показали, что во время эпилептиформной активности мембранный потенциал покоя нейронов сдвигался в сторону деполяризации ($-19,79$ мВ по сравнению с $-60,26$ мВ в контроле). Также был отмечен деполяризующий сдвиг для ГАМК-активируемого тока (потенциал реверсии сместился с $-63,81$ мВ в контроле до $-32,39$ мВ, во время эпилептиформной активности).

Исследование показало, что во время эпилептиформной активности происходит сдвиг потенциала реверсии для хлора в сторону деполяризующих значений, однако он остается более негативным по сравнению с мембранным потенциалом. ГАМК продолжает действовать как тормозной медиатор во время эпилептиформной активности, что связано с изменением мембранного потенциала в сторону еще более деполяризующих значений.

*Работа выполнена за счет средств
ПСАЛ Казанского (Приволжского) федерального университета
(ПРИОРИТЕТ-2030).*

Список литературы

1. Ben-Ari Y. Excitatory actions of gaba during development: the nature of the nurture / Ben-Ari, Y. // Nature Reviews Neuroscience. — 2002. — No 3. — P. 728–739.
2. MacDonald R. GABAA receptor channels / MacDonald, R., & Olsen, R. // Annual review of neuroscience. — 1994. — No 17. — P. 569–602.
3. Cecílio, S. Effect of Extracellular Chloride Depletion on Non-synaptic Epileptiform Activities / Cecílio, S., Santos, L., Vieira, D., Rocha,

STUDYING THE LEVEL OF CHLORIDE IONS INSIDE CELLS DURING THE DEVELOPMENT OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Abstract. Gamma-aminobutyric acid (GABA) is the main mediator that provides inhibition in the nervous system. Using a rat model, we investigated possible mechanisms for changing the functional role of GABA in control and epileptic conditions. Our results showed that GABA continues to act as an inhibitory mediator even with epileptic activity, despite the shift in the reversal potential for chlorine towards depolarizing values.

Key words: gamma-aminobutyric acid, focal epilepsy, 4-aminopyridine, rat, *in vivo*.

РЕГИСТРАЦИЯ АКТИВНОСТИ С ОДНОГО НЕЙРОНА МЕТОДОМ PATCH CLAMP ВО ВРЕМЯ ВЫЗВАННОЙ ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ *IN VIVO*

DOI 10.24412/CL-37228-2024-26-28

В. М. Силаева¹, В. Р. Ситдикова¹, А. Е. Логашкин¹,
А. Р. Мамлеев¹, М. Г. Минлебаев¹

¹ФГАОУ ВО Казанский Федеральный Университет Институт
Фундаментальной Медицины и Биологии, г. Казань, Россия
E-mail: valentisilaeva@gmail.com

Аннотация. Эпилепсия — хроническое неврологическое заболевание, характеризующееся повторяющимися приступами различной природы. Используя модель 4-аминопиридиновой фокальной эпилепсии, мы исследовали механизмы распространения эпилептиформной активности. Наши результаты показали, что локальная интракорткальная инъекция 4-аминопиридина ограничена областью, имеющей радиус порядка 1 мм, и вызванные иктальные разряды могут использоваться в качестве модели изучения эпилептиформной активности в области, не подверженной влиянию 4-аминопиридина.

Ключевые слова: эпилепсия, эпилептиформная активность, фокальная эпилепсия, соматосенсорная кора, 4-аминопиридин, внутриклеточная регистрация, patch clamp, *in vivo*.

Введение. Эпилепсия — хроническое заболевание, затрагивающее более 1,5% человек по всему миру и характеризующееся непровоцируемыми приступами различной этиологии [2]. Основным принципом разработки стратегии лечения заключается в понимании механизмов формирования электрических потенциалов в головном мозге. Большинство экспериментальных моделей фармакологически индуцированной острой эпилептиформной активности подразумевает системное введение проэпилептиогенов [1; 3]. Однако распространение проэпилептогена в нервной ткани может существенно повлиять на полученные результаты. Поэтому наряду с определением природы и механизмов генерации эпилептической активности актуальным вопросом остается создание адекватной

модели эпилептиформной активности *in vivo*, что и является целью нашего исследования.

Материалы и методы. Экспериментальная серия была проведена на ювенильных крысах линии Wistar (p13–p28, где p0 — день рождения животного). Во время исследования одновременно проводилась регистрация кортикальной активности, а также регистрация внутриклеточной активности в соматосенсорной системе. Эпилептиформная активность индуцировалась интракорткальной инъекцией 4-аминопиридина (4-АП (200 нл, 50 ммоль/л)) через углеродную трубку с внутренним диаметром 70 мкм в соматосенсорную кору крыс. Для оценки распространения 4-АП проводилась регистрация внутриклеточной активности в режиме постоянной фиксации тока.

Результаты. Инъекция 4-АП сопровождалась повторяющимися множественными эпизодами эпилептиформной активности во время внеклеточной регистрации. Результаты наших регистраций в контрольных условиях и во время эпилептиформной активности на отдельных нейронах соматосенсорной коры показали, что на расстоянии менее 1,0 мм от места введения 4-АП наблюдалось увеличение полуширины потенциала действия, в то время как на расстоянии более 1,0 мм достоверного изменения не наблюдалось.

Заключение. Таким образом, локальная интракорткальная инъекция 4-АП ограничена областью, имеющей радиус в 1 мм, и вызванные иктальные разряды могут использоваться в качестве модели для изучения эпилептиформной активности в области, не подверженной влиянию 4-АП.

*Работа выполнена за счет средств
Программы стратегического академического лидерства
Казанского (Приволжского) федерального университета
(ПРИОРИТЕТ-2030).*

Список литературы

1. Кашапов Ф.Ф. Модели эпилептиформной активности *in vivo* // APRIORI. Серия: Естественные и технические науки. — 2018. — №. 1. — С. 6.
2. Fisher R. S., Acevedo C., Arzimanoglou A., Bogacz A., Cross J.H., Elger C.E., Engel J. Jr., Forsgren L., French J.A., Glynn M., Hesdorffer D.C., Lee B.I., Mathern G.W., Moshé S. L., Perucca E.,

- Scheffer I. E., Tomson T., Watanabe M., Wiebe S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy// *Epilepsia*. — 2014 Ap. — No 55(4). — P. 475–82. — doi: 10.1111/epi.12550.
3. Velišek L. Models of chemically-induced acute seizures. In: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL, eds. *Models of Seizures and Epilepsy*. — Amsterdam: Elsevier; 2006. — P. 127–152.

RECORDING OF ACTIVITY FROM A SINGLE NEURON BY THE PATCH CLAMP METHOD DURING INDUCED EPILEPTIFORM ACTIVITY *IN VIVO*

Abstract. Epilepsy is a chronic neurological disease characterized by recurrent seizures of various natures. Using the model of 4-aminopyridine focal epilepsy, we investigated the mechanisms of the spread of epileptiform activity. Our results showed that local intracortical injection of 4-aminopyridine is limited to an area with a radius of about 1 mm, and induced ictal discharges can be used as a model for studying epileptiform activity in an area not affected by 4-aminopyridine.

Key words: epilepsy, epileptiform activity, focal epilepsy, somatosensory cortex, 4-aminopyridine, intracellular registration, patch clamp, *in vivo*.

РОЛЬ ТРЕХПЕТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА LYPD6A И LYPD6B В КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-29-31

А. Б. Исаев^{1, 2}, Д. С. Кульбацкий², М. Л. Бычков²,
А. А. Андреев-Андриевский³, Е. Н. Люкманова^{1, 2, 4, 5}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

³Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

⁴Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁵Шеньчженьский МГУ-ППИ Университет, Шеньчжень, Китай

E-mail: isaev.a@phystech.edu

Аннотация. В работе исследованы молекулярные, клеточные и поведенческие аспекты действия рекомбинантных аналогов водорастворимых доменов белков человека Lypd6A и Lypd6B из семейства Lуб/uPAR. Показано, что Lypd6A и Lypd6B ингибируют различные типы никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAХР), негативно модулируют когнитивные функции у мышей, изменяют синаптическую и ограничивают структурную пластичность в гиппокампе. На основе данных ЯМР-спектроскопии смоделирован комплекс взаимодействия Lypd6A с α_7 -nAХР.

Ключевые слова: никотиновые рецепторы, нейромодуляторы, трехпепельные белки, Lypd6A, Lypd6B, α_7 -nAХР, синаптическая пластичность, дендритные шипики, когнитивные функции, ЯМР, белковый докинг.

Никотиновые рецепторы ацетилхолина (nAChR) регулируют многие физиологические процессы, включая нейрокогнитивные функции, такие как обучение и память. С дисфункцией nAChR связан патогенез ряда нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера [1]. Эндогенные белки человека Lypd6A и Lypd6B из структурного семейства трехпепельных белков Lуб/uPAR обладают высокой (54%) аминокислотной гомологией, локализованы на поверхности нейрональной мембраны посред-

ством GPI-якоря и модулируют работу nAChR. Lypd6A играет важную роль в обеспечении ювенильной синаптической пластичности в мозге и в период развития эмбриона, положительно регулируя Wnt/ β -катенин сигнальный каскад [2]. В этой работе с использованием рекомбинантных водорастворимых аналогов белков человека ws-Lypd6A и ws-Lypd6B (содержат функциональный LU-домен, но лишены GPI-якоря) была исследована роль Lypd6A и Lypd6B в когнитивных процессах на молекулярном, клеточном и поведенческом уровне.

Методами электрофизиологии в ооцитах *Xenopus laevis* показано ингибирующее действие белка ws-Lypd6A на рецепторы α_7 - и $\alpha_3\beta_4$ -nAChR, для ws-Lypd6B — ингибирование α_7 -, $\alpha_3\beta_2$ - и $\alpha_4\beta_2$ -nAChR. На переживающих срезах гиппокампа мыши показано, что инкубация срезов с ws-Lypd6A ингибирует α_7 -nAChR и снижает долговременную потенцию (LTP), при этом ws-Lypd6B не оказывает влияния на LTP, но усиливает кратковременную пресинаптическую пластичность (PPF). Инкубация первичных нейронов гиппокампа с ws-Lypd6A и ws-Lypd6B приводит к снижению числа дендритных шипиков. Хроническое введение препаратов ws-Lypd6A и ws-Lypd6B в желудочки мозга мыши посредством осмотических помп в течение 15–21 дней оказывает контекстно-зависимое анксиогенное (тревожное) действие и негативно влияет на обучение в тесте на распознавание нового объекта, но не влияет на моторную память. При этом, не было обнаружено влияния терапии обоими препаратами на LTP.

Новые данные о биологической функции Lypd6A и Lypd6B, выражающиеся как в негативной модуляции холинэргической сигнальной системы на уровне ионных каналов, так и на морфо-функциональном уровне, вместе с ранее известными данными, подчеркивают важную физиологическую роль этих белков в модуляции нейронных сетей в мозге.

Исследование выполнено при финансовой поддержке грантов РФФИ № 20-04-00830; РФФИ №19-74-20163.

Список литературы

Koukoulis F., Maskos U. The multiple roles of the α_7 nicotinic acetylcholine receptor in modulating glutamatergic systems in the normal and diseased nervous system// Biochem. Pharmacol. — Okt.

2015. — V. 97. — No 4. — P. 378–387. — doi: 10.1016/j.bcp.2015.07.018.
12. Vasilyeva N.A., Loktyushov E.V., Bychkov M.L., Shenkarev Z.O., Lyukmanova E.N. Three-finger proteins from the Ly6/uPAR family: Functional diversity within one structural motif// *Biochem. Mosc.* — Dec. 2017. — V. 82. — No 13. — P. 1702–1715. — doi: 10.1134/S0006297917130090.

THE ROLE OF HUMAN THREE-FINGER PROTEINS LYPD6A AND LYPD6B IN COGNITIVE PROCESSES

Abstract. In the study we investigate the molecular, cellular and behavioral aspects of the action of recombinant analogues of water-soluble domains of human proteins Lypd6A and Lypd6B from the Ly6/uPAR family. Lypd6A and Lypd6B have been shown to inhibit various types of nicotinic acetylcholine receptors (nAChR), negatively modulate cognitive functions in mice, alter synaptic and limit structural plasticity in the hippocampus. Based on NMR spectroscopy data, the interaction complex of Lypd6A with $\alpha 7$ -nAChR was modeled.

Key words: nicotine receptors, neuromodulators, three-finger proteins, Lypd6A, Lypd6B, $\alpha 7$ -nAChR, synaptic plasticity, dendritic spikes, cognitive functions, NMR, protein docking.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА У КРЫС

DOI 10.24412/CL-37228-2024-32-34

Т. В. Полякова, Г. Д. Миронова, В. П. Медведева,
И. В. Булгин, В. В. Мионов, Н. В. Хмиль, М. Ю. Чемакина,
Н. В. Хундерякова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия
E-mail: Renithier996@yandex.ru

Аннотация. В докладе рассматривалась возможность использования в качестве биомаркеров болезни Паркинсона (БП) показателей активности митохондриальной сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитозольной лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в лимфоцитах, определенных с использованием высокочувствительного цитобиохимического метода. Кроме основных энергетических биомаркеров, также измерялся уровень перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА) в сыворотке. В трех экспериментальных моделях БП, различающихся введенным нейротоксином (ротенон, 6-гидроксидофамин, лактацистин), было замечено усиление гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах и усиление перекисного окисления липидов в сыворотке, что связано с изменениями в дофаминергических нейронах центральной нервной системы. Следовательно, данные показатели могут являться биомаркерами нейродегенеративных расстройств.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, нейродегенеративные расстройства, биомаркеры.

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое нейродегенеративное заболевание, сопровождающимся иммунновоспалительными нарушениями [1]. Актуальность исследования по поиску лечения и биомаркеров для диагностики БП связано с тем, что на сегодняшний день существует только симптоматическая терапия, а не полноценное лечение. В нашем исследовании использовалось 3 модели БП у крыс, различных по природе и химическому составу введён-

ного нейротоксина (ротенон, 6-гидроксидофамин (6ОНДА), лактоцистин), где наблюдалось изменения энергетической активности в лимфоцитах крови и окислительный стресс в сыворотке. Высококчувствительным Цитобιοхимическим методом [2] измерялась активность цитозольной лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и митохондриального сукцинатдегидрогеназы (СДГ), отражающая интенсивность гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах. Помимо ключевых энергетических биомаркеров, измерялся уровень перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови.

В работе использовали половозрелых самцов крыс линии Wistar массой 200–260 г разведения ИТЭБ РАН. Исследование проведено в соответствии с «Правилами проведения исследований с экспериментальными животными» (Приказ Минздрава России от 12 августа 1997 г. № 755). Все процедуры были одобрены Комиссией по биобезопасности и биоэтике (ИТЭБ РАН, разрешение № 8 от 08 февраля 2023 г.) в соответствии с Директивой 2010/ 63/ЕС Европейского парламента. Полученные данные были проанализированы с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 7.0 и Excel 10.0 и представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего.

При введении ротенона, необратимого ингибитора 1-го комплекса дыхательной цепи митохондрий в дозе 1,75 мкг/кг, наблюдалось увеличение активности СДГ, ЛДГ и повышение концентрации МДА у крыс с БП в 2 раза, по сравнению с контролем ($P \leq 0,05$). В модели с 6ОНДА, представляющим редокс-активный аналог дофамина и использующимся для поражения нигростриарного отдела [3] в дозе 4 мкг/кг веса, наблюдалось повышение активности ЛДГ на 70% без достоверного изменения активности митохондрий и увеличение количества МДА в 2 раза в сыворотке крови. В модели с природным нейротоксином Лактацистином, ингибитором ферментативной активности протеасом, наблюдалось увеличение активности ЛДГ в 4 раза, чем в других моделях. Также увеличилась активность СДГ на 68% относительно контроля. Уровень значений МДА в сыворотке не изменился. Полученные данные могут быть связаны с развитием компенсаторных реакций, направленных на усиление гликолиза и окислительного фосфорилирования в лимфоцитах и усиления перекисного окисления липидов в сыворотке в ответ на изменения в дофаминергических нейронах центральной нервной системы в исследуемых моделях БП. Следовательно, мож-

но предположить, что активность СДГ и ЛДГ в лимфоцитах периферической крови могут быть биомаркерами нейродегенеративных расстройств.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации
(соглашение № 23-25-00441).*

Список литературы

1. Левин О. С., Федорова Н. В. Болезнь Паркинсона. — 5-е изд. — М.: МЕДпресс-информ; 2015.
2. И 66 «Инновационные методы диагностики в медицине»: коллективная научная монография / под ред. В. П. Волкова. — Новосибирск: Изд. «СибАК», 2013. — 150 с.
3. Uspalenko N. I., Mosentsov A. A., Khmil N. V., Pavlik L. L.; Belosludtseva N. V., Khunderyakova N. V., Shigaeva M. I., Medvedeva V. P., Malkov A. E., Kitchigina V. F., Mironova G. D. Uridine as a Regulator of Functional and Ultrastructural Changes in the Brain of Rats in a Model of 6-OHDA-Induced Parkinson's Disease Authored by: Published // Int. J. Mol. Sci. — 2023. — V. 24. — No 18. — P. 14304.

ENERGY METABOLISM IN BLOOD LYMPHOCYTES IN EXPERIMENTAL PARKINSON'S DISEASE IN RATS

Abstract. The report considered the possibility of using indicators of mitochondrial succinate dehydrogenase (SDH) and cytosolic lactate dehydrogenase (LDH) activity in lymphocytes determined using a highly sensitive cytochemical method as biomarkers of Parkinson's disease (PD). In addition to the main energy biomarkers, the level of lipid peroxidation of malondialdehyde (MDA) in blood was also measured. In three experimental models of PD, differing in the administered neurotoxin (rotenone, 6-hydroxydopamine, lactacystine), increased glycolysis and oxidative phosphorylation in lymphocytes and increased lipid peroxidation in blood, which is associated with changes in dopaminergic neurons of the central nervous system. Therefore, these indicators can be biomarkers of neurodegenerative disorders.

Key words: Parkinson's disease, neurodegenerative disorders, biomarkers.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ФТОРА НА КЛЕТКИ ГИППОКАМПА КРЫС, СВЯЗАННЫЕ СО СНИЖЕНИЕМ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-35-37

О. В. Надей, Н. И. Агалакова

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

Аннотация. Длительное потребление крысами доз фторид-иона (F^-), сопоставимых с его содержанием в регионах эндемического флюороза, сопровождается изменением соотношения субъединиц в составе AMPA и NMDA рецепторов, активацией сигнального каскада кальпаина-1, гибелью клеток гиппокампа по митохондриальному пути апоптоза и снижением когнитивных способностей крыс. Результаты работы помогут выработать рекомендации по определению оптимальных и предельно допустимых доз F^- для потребления человеком.

Ключевые слова: фторид-ион, флюороз, когнитивные способности, гиппокамп, крысы.

В последние годы всё большее число исследований регистрируют различные неврологические и когнитивные расстройства у людей, подверженных воздействию фторид иона (F^-) в регионах эндемического флюороза или на промышленных предприятиях [1]. Однако во многих странах соединения фтора добавляют в стоматологическую продукцию, питьевую воду и пищевые добавки, что приводит к его потреблению выше рекомендованного уровня, в то время как его нейротоксичность недооценивается [2; 3]. Целью работы было оценить когнитивные способности крыс после длительного потребления избыточных доз F^- и охарактеризовать изменения экспрессии посредников различных путей гибели клеток и разных типов субъединиц AMPA и NMDA рецепторов в гиппокампе.

Самцы крыс Wistar в течение года получали воду *ad libitum* с 5, 20 и 50 мг/л F^- (в виде NaF). Содержание фторид иона в плазме крови крыс зависит от его потребления нелинейно, а скорость выве-

дения из организма в среднем в 5–7 раз выше, чем у человека [4]. Поэтому дозы фторид иона, выбранные для эксперимента, позволили получить уровни в плазме крови крыс, сопоставимые с концентрациями фторид иона в плазме крови людей в регионах эндемического флюороза [2]. Содержание F^- в плазме крови определяли с помощью F^- -специфичного электрода. Когнитивные способности животных оценивали с помощью поведенческих тестов (У-образного лабиринта, водного теста Морриса и теста распознавания нового объекта). Морфологические изменения и число нейронов гиппокампа оценивали на срезах мозга после окраски по методу Ниссля. Экспрессию изучаемых генов и кодируемых ими белков оценивали методами ОТ-ПЦР и иммуноблоттинга, соответственно.

Поведенческие тесты показали, что избыточное потребление фторид иона приводит к снижению пространственной рабочей и долговременной (пространственной и непространственной) памяти крыс. В полях CA1 и CA3 гиппокампа животных, получавших фторид ион, наблюдались патологические изменения и снижение численной плотности нейронов. В клетках гиппокампа снижалась экспрессия анти-апоптотического белка Bcl-2 на фоне активации про-апоптотического белка Bax и каспазы-3. Содержание посредников некроптоза (RIP и MLKL) и рецепторного пути апоптоза (Fas) оставалось стабильным, однако ингибировался ключевой эффектор аутофагии Beclin-1. Длительное воздействие F^- привело к значительным изменениям в соотношении и субклеточном распределении различных субъединиц AMPA и NMDA рецепторов, в результате чего в мембранах клеток преобладали Ca^{2+} -проницаемые AMPA и GluN2A-содержащие NMDA рецепторы. Стимуляция ионотропных глутаматных рецепторов сопровождалась активацией Ca^{2+} -зависимой протеазы кальпаина-1 и его посредников (RhoA, RHLPP1, ERK1/2).

Таким образом, длительное потребление фторид иона привело к изменениям соотношения субъединиц в составе AMPA и NMDA рецепторов, активации сигнального каскада кальпаина-1, гибели клеток по митохондриальному пути апоптоза и снижению когнитивных способностей крыс.

*Работа выполнена в соответствии с гос. заданием ИЭФБ РАН
№ 075-00264-24-00.*

Список литературы

1. Veneri F. Fluoride exposure and cognitive neurodevelopment: Systematic review and dose-response meta-analysis/ Veneri F, Vincetti M., Generali L., Giannone M.E., Mazzoleni E., Birnbaum L.S., Consolo U., Filippin T.// *Environmental Research*. — 2023. — V. 221. — P. 115239.
2. Taher M.K. Systematic review of epidemiological and toxicological evidence on health effects of fluoride in drinking water/ Taher M.K., Momoli F., Go J., Hagiwara S., Ramoju S., Hu X., Jensen N., Terrell R., Hemmerich A., Krewski D.// *Critical Reviews in Toxicology*. — 2024. — V. 54. — No 1. — P. 2–34.
3. Petrović B. Toothpaste ingestion-evaluating the problem and ensuring safety: systematic review and meta-analysis/ Petrović B., Kojić S., Milić L., Luzio A., Perić T., Marković E., Stojanović G.M.// *Frontiers in Public Health*. — 2023. — V. 11. — P. 1279915.
4. Lyaruu D.M. The effect of fluoride on enamel and dentin formation in the uremic rat incisor/ Lyaruu D.M., Bronckers A.L., Santos F., Mathias R., DenBesten P.// *Pediatr. Nephrol.* — 2008. — V. 23. — P. 1973–1979.

MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION OF FLUORIDE-IONS ON RAT HIPPOCAMPAL CELLS ASSOCIATED WITH A DECREASE IN COGNITIVE ABILITIES

Abstract. Long-term consumption by rats of doses of fluoride-ion (F⁻), comparable to its content in the regions of endemic fluorosis, is accompanied by a change in the ratio of subunits in the composition of AMPA and NMDA receptors, activation of the calpain-1 signaling cascade, death of hippocampal cells along the mitochondrial pathway of apoptosis and a decrease in cognitive abilities of rats. The results of the work will help to develop recommendations for determining the optimal and maximum permissible doses of F⁻ for human consumption.

Key words: fluoride ion, fluorosis, cognitive abilities, hippocampus, rats.

КИСПЕПТИН 10 ВЛИЯЕТ НА ПОЛОВУЮ МОТИВАЦИЮ САМЦОВ КРЫС ПОСЛЕ СТРЕССА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-38-40

В. А. Гольц², А. П. Перова¹, Е. Р. Бычков^{1,2}, Г. П. Косякова^{2,3}

¹Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ),
Санкт-Петербург, Россия

²Институт экспериментальной медицины (ИЭМ), Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский
университет (СПбГПМУ)

E-mail: digitalisobscura@mail.ru

Аннотация. В данном исследовании мы определяли воздействие рестрикционного стресса на половую активность самцов и последующую коррекцию с помощью препарата кисспептина 10. Рестрикционный стресс проводили с ограничением подвижности животного в течение 6 часов. Установили, что кисспептин 10 повышает половую активность у самцов крыс после действия рестрикционного стресса, что проявлялось в снижении латентного времени, увеличении числа садок и незначительном повышении уровня тестостерона в крови.

Ключевые слова: половое поведение, кисспептин 10, рестрикционный стресс, крысы в эструсе.

Психогенная импотенция в основном диагностируется у молодых мужчин. Вызвано расстройство психологическими причинами. Данный вид импотенции чаще всего обусловлен стрессом, тревожностью, страхами и другими эмоциональными проблемами [1]. Цель исследования состояла в изучении действия кисспептина 10 на половое поведение крыс после стресса.

Экспозиция рестрикционного стресса проводилась на самцах крыс линии Вистар [2]. Для оценки полового поведения самца [3] помещали в клетку к самке в фазе эструса. Фиксировали латентное время подхода к самке и число садок на самку в течение 3-х минут.

Латентное время подхода к самке у стрессированных животных увеличивалось в 1,3 раза по сравнению с контролем. После интраназального введения латентное время уменьшалось в 1,8 раза

в сравнении со стрессированной группой без введения препарата. После однократного внутрибрюшинного введения кисспептина 10 латентное время снижалось в 2,6 в сравнении со стрессированной группой без препарата. После курса интраназального введения кисспептина 10 латентное время снижалось в 3 раза в сравнении с группой стресса без препарата. После курса введения кисспептина 10 внутрибрюшинно латентное время снижалось в 2,4 в сравнении с группой после стресса без препарата.

После однократного введения кисспептина 10 внутрибрюшинно увеличивалось число садок на самку в 3 раза в сравнении с группой после стресса без препарата. После курса введения кисспептина 10 внутрибрюшинно увеличивалось число садок на самку в 3,3 раза в сравнении с группой без препарата. Отмечали повышение половой мотивации после интраназального и внутрибрюшинного введения кисспептина 10 в сравнении с контрольной группой животных и животных после рестрикционного стресса. Наблюдали увеличение частоты садок после введения кисспептина 10 внутрибрюшинно. При интраназальном способе введения кисспептина 10 мы обнаружили тенденцию к увеличению консуматорной стадии. В плазме крови выявили повышение тестостерона в 1,13 раз только после внутрибрюшинного введения кисспептина 10 в сравнении с группой после стресса без препарата, что связано с центральным действием кисспептина 10 как регулятора HPG-оси.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания
Минобрнауки России (2022- 2025 гг.).
«Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия
при аддиктивных и нейроэндокринных нарушений
и создание новых фармакологически активных веществ,
действующих на рецепторы ЦНС»,
шифр FGWG-2022-000*

Список литературы

1. Ludwig W. Organic causes of erectile dysfunction in men under / 1. Ludwig W., Phillips M.// Urol Int. — 2014. — No 9(2). — P. 1–6. — doi:10.1159/000354931.
2. Логинов П.В. Функциональное состояние репродуктивного аппарата самцов белых крыс в условиях иммобилизационного стресса/ П.В. Логинов, А.А. Николаев// Фундаментальные исследования. — 2014. — № 9(10) — С. 2213–2217.

3. Chahoud I, Faqi A. An optimized approach for the assessment of sexual behavior in male rats. / Chahoud I Faqi A. // *Reprod Toxicol.* — 1998. — No 6. — P. 667–671. — doi: 10.1016/s0890-6238(98)00051-3.

KISSPEPTIN-10 AFFECTS THE SEXUAL MOTIVATION OF MALE RATS AFTER STRESS

Abstract. In this study, we determined the effect of restriction stress on male sexual activity and subsequent correction using the neuropeptide kisspeptin-10. Restriction stress was carried out with restriction of animal mobility for 6 hours. It was found that kisspeptin-10 increases sexual activity in male rats after the action of restriction stress, which manifested itself in a decrease in latency, an increase in the number of mating acts and a slight increase in testosterone levels in the blood.

Key words: sexual behavior, kisspeptin-10, restriction stress, rats in estrus.

ВЛИЯНИЕ Rg108 НА ФОРМИРОВАНИЕ И ПОДДЕРЖАНИЕ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПОТЕНЦИАЦИИ ВПСР ПРЕМОТОРНЫХ ИНТЕРНЕЙРОНОВ У ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ *HELIX LUCORUM*

DOI 10.24412/CL-37228-2024-41-43

М. В. Карибьянц¹, П. М. Балабан¹, А. Б. Зюзина¹

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

E-mail: karibyantsm@mail.ru

Аннотация. Исследовали влияние ингибитора метилтрансфераз Rg108 на долговременные синаптические изменения виноградной улитки. Выработали долговременную потенцию посредством тетанизации и аппликации серотонина. Rg108 препятствует выработке долговременной потенции в холинергических и глутаматергических синапсах.

Ключевые слова: синаптическая пластичность, Rg108, потенция, виноградная улитка.

Достоверно известно влияние эпигенетических регуляторов на процессы нейропластичности. В общем случае, ингибиторы метилтрансфераз препятствуют пластическим изменениям, в то время как ингибиторы гистондеацетилаз способствуют проявлениям синаптической пластичности [1]. На различных моделях, в том числе на виноградной улитке, был отработан метод выработки долговременной потенции посредством тетанизирующих стимуляций и аппликации серотонина [2]. Ранее было изучено влияние аппликации серотонина и бутирата натрия на возникновение долговременных пластических изменений в условиях электрофизиологического эксперимента на препаратах изолированной центральной нервной системы, а также воздействие эпигенетических регуляторов в условиях поведенческого эксперимента.

В данной работе исследуется влияние ингибитора метилтрансферазы Rg108 на долговременные пластические изменения в центральной нервной системе виноградной улитки на холинергиче-

ском и глутаматэргическом синапсах. Долговременная потенция вызывается пятикратной тетанизацией с интервалом в 5 мин. стимулом в 10 раз больше тестового частотой 10 Гц и аппликацией серотонина.

Работа была выполнена на гигантских командных интернейронах (Па2 и Па3). Исследуемые нейроны получают как холинергическую, так и глутаматергическую стимуляцию через кишечный и кожный нервы, соответственно. Тестовая стимуляция без тетанизации как по холинергическому, так и по глутаматергическому нервам вызвала постепенное снижение амплитуды ВПСП (возбуждающий постсинаптический потенциал) как с применением RG108, так и без него. Статистически значимых различий между амплитудами ВПСП между группами с RG108 и без RG108 обнаружено не было.

Были обнаружены статистически значимые различия в экспериментах с тетанизацией глутаматергического (кожного) нерва. Ослабление синаптического ответа в группе с RG108 и серотонином по сравнению с группой без RG108 (только с серотонином) началось через 1,5 часа после завершения тетанизации. Так, через 120 мин. после последней тетанизации амплитуда ВПСП в группе без RG108 составляла $172,3 \pm 16,3\%$ от исходной, тогда как в группе с RG108 только $105,4 \pm 33,1\%$. Через 4 ч. после последней тетанизации амплитуда ВПСП в группе без RG108 достоверно превышала амплитуды ответов в группе с RG108: $120,2 \pm 14,4\%$ и $25,6 \pm 4,4\%$, соответственно.

Были обнаружены статистически значимые различия в экспериментах с тетанизацией холинергического (кишечного) нерва. Так, через 10 мин. после последней тетанизации, совмещенной с аппликацией серотонина, амплитуда ВПСП в группе без RG108 составляла $178,3 \pm 20,2\%$ от исходной, а в группе с RG108 — $133,1 \pm 7,4\%$. Дальнейшая регулярная стимуляция по нерву вызывала ослабление синаптического ответа в группе с RG108 по сравнению с группой без RG108. На всем интервале от 60 мин. после последней тетанизации до 250 мин. после последней тетанизации экспериментальной записи между данными группами наблюдалось достоверное отличие. Так, через 120 мин. после тетанизации амплитуда ВПСП в группе без RG108 составляла $178,5 \pm 24,2\%$ от исходной, тогда как в группе с RG108 только $86,9 \pm 16,8\%$. Через 4 ч. после последней тетанизации амплитуда ВПСП в группе без RG108 по-прежнему достоверно превышала амплитуды ответов в группе с RG108: $152,3 \pm 15,3\%$ и $47,1 \pm 17,5\%$, соответственно.

Таким образом, было показано, что применение ингибитора метилтрансферазы RG108 препятствует выработке долговременной потенциации как холинергического, так и глутаматергического синапсов.

Список литературы

1. Levenson J., et al. Regulation of Histone Acetylation during Memory Formation in the Hippocampus// Journal of Biological Chemistry. — 2004. — V. 279. — No 39. — P. 40545–40559.
2. Rayport S.G., et al. Synaptic plasticity in vitro: cell culture of identified Aplysia neurons mediating short-term habituation and sensitization// Journal of Neuroscience. — 1986. — V. 6. — No 3. — P. 759–763.

THE EFFECT OF RG108 ON THE FORMATION AND MAINTENANCE OF LONG-TERM POTENTIATION OF EPSP PREMOTOR INTERNEURONS IN THE GRAPE SNAIL (*HELIX LUCORUM*)

Abstract. The effect of the methyltransferase inhibitor Rg108 on long-term synaptic changes in the grape snail was investigated. They developed long-term potentiation through tetanization and application of serotonin. Rg108 prevents the development of long-term potentiation in cholinergic and glutamatergic synapses.

Key words: synaptic plasticity, Rg108, potentiation, grape snail.

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ОТВЕТОВ *DANIO RERIO* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ISRIB В МОДЕЛИ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-44-46

А. Д. Шевляков¹, Н. П. Ильин², Т. О. Колесникова^{1,2},
Н. В. Католикова², С. А. Чекрыгин², Д. С. Галстян²,
К. А. Демин², А. В. Калуев^{1,2}

¹Научно-технологический Университет «Сириус», Сочи, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр

имени В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: anton27sh@gmail.com

Аннотация. Травматическое повреждение мозга (ТПМ) вызывает комплекс дегенеративных процессов, таких как нейровоспаление, апоптоз, эксайтотоксичность и окислительный стресс. В данной работе исследуется влияние препарата ISRIB, который предотвращает фосфорилирование фактора инициации трансляции eIF2a, на транскриптомные ответы в модели ТПМ у рыб *Danio rerio*. С помощью анализа данных RNA-seq было выявлено, что воздействие ISRIB способствует нейрорегенерации и восстановлению ЦНС за счет снижения экспрессии генов, связанных с клеточной гибелью и воспалением, а также увеличения активности путей, связанных с нейрогенезом и синаптической пластичностью. Результаты подтверждают эффективность ISRIB в терапии вторичных повреждений мозга после ТПМ.

Ключевые слова: травматическое повреждение мозга (ТПМ), *Danio rerio*, ISRIB, нейрорегенерация, нейровоспаление, синаптическая пластичность.

Травматическое повреждение мозга (ТПМ) представляет собой комплекс патофизиологических и морфологических изменений функций мозга, вызванных внешними факторами, такими как удары, проникающие травмы и сотрясение мозга [1]. Клиническая картина ТПМ характеризуется тяжелыми последствиями вторичных повреждений нейротравмы, которые включают в себя целый комплекс дегенеративных процессов, таких как нейровоспаление,

апоптоз, эксайтотоксичность, окислительный стресс и др. [2]. Таким образом, молекулярные механизмы ТПМ требуют детального изучения с последующим поиском новых методов их терапии, а также эффективных моделей ТПМ на животных. Одним из перспективных препаратов для лечения последствий нейротравмы является ISRIB, препятствующий фосфорилированию фактора инициации трансляции eIF2a — ключевого белка в пути интегрированного ответа на стресс, как одного из основных путей вторичных повреждений при ТПМ [3].

Целью данной работы является анализ данных RNA-seq образцов мозга рыб *Danio rerio* и выявление ключевых генов и молекулярных путей, характеризующих влияние ISRIB на работу ЦНС после ТПМ. В исследовании использовались рыбы *Danio rerio*, разделенные на 4 группы (всего 26 образцов): контроль (С) — 7 шт., рыбы с ТПМ (Т) — 7 шт., рыбы с инъекцией ISRIB (I) — 5 шт. и рыбы с ТПМ и инъекцией ISRIB (ТI) — 7 шт. Травма наносилась уколом иглы в область конечного мозга. Инъекции ISRIB проводились с помощью инсулинового шприца в дозе 2,5 мг/кг на 1, 2 и 3 дни после травмы.

Секвенирование РНК проводили с использованием Illumina HiSeq2500 с длиной прочтения 110 п.н. Оценка количества транскриптов проводилась с использованием референсного транскриптома *Danio rerio* GRCz11 и программного обеспечения salmon (версия 1.10.0). Анализ дифференциальной экспрессии проводился с помощью пакета DESeq2 Bioconductor (версия 1.40.2). Далее проводился анализ биологических путей с использованием GAGE (версия 4.3.1) и анализ сетей ко-экспрессии с помощью WGCNA (версия 1.72-5).

По результатам анализа дифференциальной экспрессии генов было проведено сравнение трех групп образцов (Т, I и ТI) с контрольной группой (С) и выявлены специфичные гены для каждой. В случае группы Т, данные гены были ассоциированы с апоптозом, воспалением, иммунным ответом и репарацией ДНК. В группе I — нейрогенезом, морфологическим развитием и активацией цитоскелета. В группе ТI — клеточной адгезией, активацией цитоскелета, а также иммунным ответом, но в меньшем количестве, чем в группе Т. Анализ биологических путей продемонстрировал значимое обогащение общими путями, связанными с нейрогенезом и синаптической пластичностью, у групп I и ТI. В совокупности со снижением обогащения путей генами клеточной гибели и воспаления

в группе ТI в сравнении с группой Т, такой результат свидетельствует об активации процессов нейрорегенерации и восстановления на молекулярном уровне в мозге *Danio rerio* в ответ на введение препарата ISRIB, что подтверждает его эффективность при терапии вторичных повреждений после ТПМ.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации
(Соглашение № 075-15-2020-901).*

Список литературы

1. Babchenko V. Y., et al. Traumatic brain injury models in Zebrafish (*Danio rerio*) // Neuroscience and Behavioral Physiology. — 2022. — V. 52. — No 3. — P. 405–414.
2. Hartings J. A., et al. Spreading depolarisations and outcome after traumatic brain injury: a prospective observational study // The Lancet Neurology. — 2011. — V. 10. — No 12. — P. 1058–1064.
3. Anand A. A., Walter P. Structural insights into ISRIB, a memory-enhancing inhibitor of the integrated stress response // The FEBS journal. — 2020. — V. 287. — No 2. — P. 239–245.

ANALYSIS OF TRANSCRIPTOMIC RESPONSES OF *DANIO RERIO* UNDER THE INFLUENCE OF ISRIB IN A MODEL OF TRAUMATIC BRAIN INJURY

Abstract. Traumatic brain injury (TPM) causes a complex of degenerative processes such as neuroinflammation, apoptosis, excitotoxicity and oxidative stress. In this paper, the effect of the drug ISRIB, which prevents phosphorylation of the translation initiation factor eIF2 α , on transcriptomic responses in the TPM model in *Danio rerio* fish is investigated. Analysis of RNA-seq data revealed that ISRIB exposure promotes neuroregeneration and CNS repair by reducing gene expression associated with cell death and inflammation, as well as increasing the activity of pathways associated with neurogenesis and synaptic plasticity. The results confirm the effectiveness of ISRIB in the treatment of secondary brain damage after TPM.

Key words: traumatic brain injury (TPM), *Danio rerio*, ISRIB, neuroregeneration, neuroinflammation, synaptic plasticity.

**СОЗДАНИЕ
ИНФОРМАЦИОННО-СПРАВОЧНОЙ СИСТЕМЫ
«АТЛАС РАЗВИТИЯ
ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА»
И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В ПРАКТИЧЕСКИХ ЦЕЛЯХ**

DOI 10.24412/CL-37228-2024-47-49

**Е. О. Грушецкая, А. С. Харламова, О. С. Годовалова,
Е. Г. Отлыга, А. Е. Прощина**

Научно-исследовательский институт морфологии человека
имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр
хирургии имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия
Email: 050101j@mail.ru

Аннотация. Работа включает в себя создание доступного атласа развития мозга человека на русском языке. Мы проводим отбор материала, его оцифровку, разметку и подробное аннотирование. Атлас включает в себя три раздела с иллюстрациями, текстовыми описаниями и интерактивными элементами.

Ключевые слова: развитие головного мозга, атлас, пренатальное развитие, гистология, ИГХ.

Использование информационных технологий является неотъемлемой частью деятельности научного, медицинского и образовательного сообществ в современном мире. Эту деятельность невозможно осуществить без качественных цифровых ресурсов. Целью данной работы является разработка информационно-справочной системы по пренатальному развитию головного мозга человека — первого подобного ресурса на русском языке.

Система разрабатывается в рамках исследования «Иммунофенотипическая карта нейрогенеза коры головного мозга человека». Работа ведется на архиве макро- и микропрепаратов головного мозга из коллекции аутопсийного материала лаборатории развития нервной системы. Исследование одобрено локальным этическим комитетом института морфологии человека (протокол № 33 (9))

от 07.02.2022). База данных создается на основе оцифровки препаратов при помощи гистологического сканера МЕКОС-Ц2 (Мекос, Россия) на базе микроскопа AxioImager 1 (Zeiss, Германия) с последующей векторной разметкой и аннотированием.

Прототип системы представлен в виде сайта в сети Интернет под названием «Атлас развития мозга человека» [1]. Разрабатываемая система включает в себя три основных блока: 1) текстовые описания образцов человеческого мозга на определенном сроке, начиная с 10-й недели гестационного развития, и методов их обработки, а также галереи отсканированных серий срезов, окрашенных при помощи классических гистологических окрасок; 2) аннотированные атласы мозга в высоком разрешении на разных сроках; 3) раздел со сканами срезов, на которых проведены иммуногистохимические реакции с важнейшими маркерами нейро- и глиогенеза, позволяющими проанализировать изменения иммунофенотипического профиля во время пренатального развития, начиная с 11-й недели гестационного развития. На сайте дано описание десяти образцов головного мозга в сопровождении галерей; для восьми из них выполнена частичная разметка в атласе.

На практике информационно-справочная система может быть использована практикующими специалистами, преподавателями и студентами биологической и медицинской направленностей при изучении анатомии, морфологии, развития и ряда функциональных особенностей головного мозга, т.к. электронный атлас обладает высокой проектно-интерактивной наглядностью и доступен с большинства устройств. По этой же причине система будет востребована для фундаментальных исследований. Атлас развития мозга человека является структурированной базой данных, а значит, существует возможность обучения искусственного интеллекта на его основе и, как следствие, наращивания диагностических мощностей в медицинской отрасли.

Исследование поддержано грантом РФФ №22-15-00172.

Список литературы

1. HUMAN BRAIN ATLAS. — URL: <https://brainmorphology.science/ru/> (дата обращения: 15.04.2024).

CREATION OF THE INFORMATION AND REFERENCE SYSTEM “ATLAS OF HUMAN BRAIN DEVELOPMENT” AND PROSPECTS FOR ITS USE FOR PRACTICAL PURPOSES

Abstract. The work includes the creation of an accessible atlas of human brain development in Russian. We select the material, digitize it, mark it up and annotate it in detail. The atlas includes three sections with illustrations, text descriptions and interactive elements.

Key words: brain development, atlas, prenatal development, histology, immunohistochemistry (IHC).

ИНАКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРА PDGFR β В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИВОДИТ К НАРУШЕНИЯМ МИГРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НЕЙРОНОВ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-50-52

Х. К. Целис Суэскун¹, Н. С. Хорева¹, В. С. Тарабыкин²

¹Научно-исследовательский институт нейронаук, лаборатория генетики развития мозга, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Institute of Cell Biology and Neurobiology, Charité-Universitätsmedizin, Берлин, Германия

E-mail: juancamilo1297@gmail.com

Аннотация. Исследование доказывает роль PDGFR β в процессах миграции и определение клеточной судьбы развивающихся нейронов коры головного мозга. С помощью метода *in utero* электропорации, проводили эксперименты по повышенной экспрессии, а также инактивации PDGFR β что приводили к изменениям доли Satb2+ и Stip2+ клеток, а также к нарушениям миграции и распределения нейронов по слоям коры головного мозга.

Ключевые слова: нейрогенез, кора головного мозга, *in utero* электропорация.

В процессе развития коры головного мозга фосфорилирование белков играет важную роль в сигнальных путях, контролируемых многими клеточными процессами, включая регуляцию клеточного цикла, пролиферацию, дифференцировку, метаболизм и апоптоз. В предыдущих экспериментах *in vitro* с использованием библиотеки ингибиторов киназ рецептор тромбоцитарного фактора роста бета (PDGFR β) был идентифицирован как потенциальный регулятор клеточной судьбы развивающихся нейронов [1]. В связи с этим была проведена серия экспериментов с применением метода *in utero* электропорации (IUE) для изучения роли PDGFR β в развитии коры головного мозга и определении клеточной судьбы.

С целью исследования влияния повышенной экспрессии (OverExpression, OE) PDGFR β в процессе нейрогенеза нами был создан генетический конструктор pCAG-PDGFR β -IRES-eGFP. IUE

проводилась на стадии e14.5 эмбрионального развития до начала спецификации нейрональных клеток верхних слоев с последующим анализом на стадии e18.5. Эксперименты проводились на линии мышей BALB/c. В качестве контроля использовались конструкторы с флуоресцентными белками — pCAG-eGFP и pCAG-Venus. Повышенная экспрессия PDGFR β в нейронах коры головного мозга после IUE приводила к значительному снижению количества нейронов верхних слоев коры (Satb2+). В то же время наблюдалось значительное увеличение количества нейронов глубоких слоев коры (Stip2+). Кроме того, повышенная экспрессия PDGFR β привела к изменению распределения нейронов по слоям коры, значительно увеличивая количество eGFP+ клеток в нижних слоях, что свидетельствует о нарушении миграции нейронов.

Для изучения роли PDGFR β *in vivo* были проведены эксперименты по ингибированию (Knock-Out, KO) PDGFR β с помощью конструктора, кодирующего shPHK (“short-hairpin”). Аналогично PDGFR β OE, IUE проводилась на стадии e14.5, и дальнейший анализ — на стадии e18.5 на линии мышей BALB/c. В качестве контроля использовался конструктор, кодирующий неактивную (scramble) shPHK вместе с pCAG-eGFP и pCAG-Venus. Ингибирование PDGFR β приводило к изменению доли Satb2+ клеток, а также к нарушению миграции нейронов. PHK интерференция PDGFR β приводит к значительному увеличению количества Satb2+ нейронов, в то время как общее количество Stip2+ нейронов остается практически неизменным. Послойное распределение eGFP+ нейронов демонстрирует два выраженных варианта распределения PDGFR β KO клеток. С одной стороны, нейроны чаще находятся в глубоких слоях неокортекса, с другой — значительно увеличено количество клеток, находящихся в верхних слоях коры по сравнению с контрольной группой. Данное распределение клеток может свидетельствовать о нарушении механизмов миграции.

Полученные нами результаты *in vivo* коррелируют между собой. При PDGFR β OE наблюдалось значительное уменьшение Satb2+ клеток коре, в то время как PDGFR β KO приводила к противоположному эффекту, демонстрируя возможную роль данной киназы в отрицательной регуляции экспрессии Satb2 в развивающихся нейронах. Также полученные данные *in vivo* предполагают, что PDGFR β играет важную роль в процессах образования сложной цитоархитектуры коры посредством контроля механизмов миграции и определения клеточной судьбы нейронов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации
(проект № FSWR-2023-0029).*

Список литературы

1. Ambrozkiwicz M. C., Bessa P., Salazar-Lázaro A., Salina V., Tarabykin V. *Satb2(Cre/+)* mouse as a tool to investigate cell fate determination in the developing neocortex // *J. Neurosci. Methods.* — 2017. — No 291. — P. 113–121.

INACTIVATION OF THE PDGFR β RECEPTOR IN THE CEREBRAL CORTEX LEADS TO IMPAIRED MIGRATION AND DIFFERENTIATION OF NEURONS

Abstract. The study proves the role of PDGFR β in migration processes and the determination of the cellular fate of developing neurons in the cerebral cortex. Using the *in utero* electroporation method, experiments were conducted on increased expression and inactivation of PDGFR β , which led to changes in the proportion of *Satb2*⁺ and *Ctip2*⁺ cells, as well as to disturbances in the migration and distribution of neurons across the layers of the cerebral cortex.

Key words: neurogenesis, cerebral cortex, *in utero* electroporation.

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ И РОЛИ ГЕНА *SPOUT1* В РАЗВИТИИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-53-55

А. Е. Филатьева¹, П. Е. Анисимова¹, Н. Н. Митина¹,
Р. Маруфиан², В. С. Тарабыкин³, Е. В. Кондакова¹

¹Научно-исследовательский институт нейронаук Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Российская Федерация

²Институт неврологии Университетского колледжа Лондона, Лондон, Великобритания

³Институт клеточной биологии и нейробиологии клиники Шарите, Берлин, Германия

E-mail: filatjevaanastasia@yandex.ru

Аннотация. Мутации гена *Spout1* ассоциированы с нарушениями развития нервной системы, однако молекулярные механизмы патогенеза не изучены. Нами было показано, что ген *Spout1* экспрессируется на всех важнейших стадиях кортикогенеза, а его инактивация с помощью shRNA методом *in utero* электропорации в предшественниках нейронов приводит к задержке их выхода из митоза и последующему нарушению дифференцировки, что в свою очередь может приводить к уменьшению количества нейронов в коре головного мозга.

Ключевые слова: нарушения развития нервной системы, микроцефалия, инактивация гена *Spout1*, кортикогенез.

Развитие коры головного мозга — это сложный, многоступенчатый процесс, нарушения которого приводят к серьёзным нейропатологиям. Такие нарушения часто обусловлены генетическими факторами и вызывают структурные аномалии, такие как микро- и макроцефалия или нарушения функции мозга, проявляющиеся в расстройствах аутистического спектра, умственной отсталости и эпилепсии. Было показано, что мутации в гене *Spout1* могут приводить к подобным нарушениям [1], однако молекулярные механизмы патогенеза на данный момент не изучены. Целью данной работы явилось установление паттерна экспрессии гена *Spout1* на эмбриональных стадиях развития мыши и изучение влияния инактивации гена на процессы кортикогенеза.

Для изучения паттерна экспрессии гена *Spout1* использовали метод гибридизации РНК *in situ* (ISH). В ходе проведения ISH мРНК гена на срезах гибридизовали с синтетическими РНК пробами, меченными дигоксигенином. Срезы обрабатывали BCIP/NBT, который при взаимодействии с щелочной фосфатазой образует нерастворимый осадок сине-фиолетового цвета, наблюдаемый в световой микроскоп. В экспериментах по инактивации гена *Spout1* в кортикальных предшественниках *in vivo* использовали метод *in utero* электропорации (IUE). На 13 день эмбрионального развития в боковые желудочки головного мозга эмбриона мыши линии СЗН вводили плазмидный конструкт, экспрессирующий shRNA против мРНК *Spout1*, а также плазмиду, экспрессирующую кДНК белка GFP. Через 24 часа после электропорации беременным самкам однократно внутривентрикулярно вводили синтетический нуклеозидный аналог тимидина, бромодезоксиуридин (BrdU). Через 24 часа после инъекции BrdU осуществляли выделение и фиксацию образцов головного мозга.

Экспрессия гена *Spout1* была обнаружена на стадиях e14.5, e16.5 и e18.5 в вентрикулярной и субвентрикулярной зонах. Кроме того, более слабый уровень экспрессии был обнаружен в кортикальной пластинке и в интермедиальной зоне. При помощи иммуногистохимии срезы мозга были проанализированы на наличие клеток, дважды положительных по GFP и маркеру пролиферирующих клеток Ki67 — это клетки, остающиеся в митотическом цикле через 48 часов после IUE. В контрольном эксперименте процент таких клеток составил 20% от всех GFP-положительных клеток. В экспериментах с IUE доля клеток, которые не вышли из митотического цикла, была вдвое больше по сравнению с контрольными образцами. Дополнительное окрашивание антителами к BrdU показывает клетки, которые находились в митотическом цикле через 24 часа после электропорации. Процент клеток, положительных на GFP/BrdU/Ki67 в опытных образцах составил 48% по сравнению с контролем, где доля клеток оказалась значительно ниже — 33%, что свидетельствует о нарушении выхода из митотического цикла и процесса дифференцировки при инактивации данного гена.

Полученные результаты показывают, что ген *Spout1* экспрессируется в нейрональных предшественниках на протяжении всего периода кортикогенеза, что в свою очередь подчеркивает важность этого гена и связанных с ним молекулярных каскадов на каждом из изученных этапов развития коры головного мозга. Продемон-

стрировано, что инактивация гена *Spout1* в делящихся клетках приводит к задержке их выхода из митоза и нарушению дифференцировки нейрональных предшественников. Следовательно, можно предположить, что причина микроцефалии при мутации данного гена заключается в нарушении выхода из клеточного цикла, что приводит к уменьшению количества нейронов в коре.

*Исследование выполнено при поддержке
Министерства науки и высшего образования РФ
(проект № FSWR-2023-0029).*

Список литературы

1. Dharmadhikari A. V., Abad M. A., Khan S., Maroofian R., et al. RNA methyltransferase SPOUT1/CENP-32 links mitotic spindle organization with the neurodevelopmental disorder SpADMISS// medRxiv [Preprint]. — 2024 Jan. — doi: 10.1101/2024.01.09.23300329.

STUDYING THE EXPRESSION AND ROLE OF THE *SPOUT1* GENE IN THE DEVELOPMENT OF THE CEREBRAL CORTEX

Abstract. Mutations of the *Spout1* gene are associated with disorders of the development of the nervous system, but the molecular mechanisms of pathogenesis have not been studied. We have shown that the *Spout1* gene is expressed at all important stages of corticogenesis, and its inactivation using shRNA by *in utero* electroporation in the precursors of neurons leads to a delay in their exit from mitosis and subsequent disruption of differentiation, which in turn can lead to a decrease in the number of neurons in the cerebral cortex.

Key words: disorders of the nervous system, microcephaly, inactivation of the *Spout1* gene, corticogenesis.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ NMDA И AMPA РЕЦЕПТОРОВ В ВЕНТРАЛЬНОМ И ДОРСАЛЬНОМ ГИППОКАМПЕ КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ПРИ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОМ СОСТОЯНИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-56-58

Н. О. Лощинина^{1,2}, К. Д. Пшеницына^{1,2},
Е. С. Прокопенко^{1,2}, О. В. Надей¹

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

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

E-mail: olganadej@gmail.com

Аннотация. Депрессивно-подобное состояние (ДПС) у крыс сопровождается изменением экспрессии генов субъединиц ионотропных глутаматных AMPA и NMDA рецепторов в дорсальном и вентральном гиппокампе, что свидетельствует о модуляции субъединичного состава рецепторов, которое напрямую влияет на их функциональную активность. При развитии ДПС в разных возрастных группах крыс наблюдались различные изменения экспрессии, что может свидетельствовать о разных возрастных нейробиологических особенностях этого заболевания.

Ключевые слова: депрессивное расстройство, депрессивно-подобное состояние, AMPA, NMDA.

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, с депрессивными расстройствами (ДР) сталкивается от 10 до 15% мирового населения [1]. Трудности в изучении ДР связаны с его гетерогенностью и различной степенью тяжести у людей разного возраста [2]. Как показали недавние исследования, важную роль в развитии ДР играют NMDA рецепторы, опосредующие возбуждающую нейротрансмиссию, и AMPA-рецепторы, обеспечивающие изменение мембранного потенциала для открытия канала NMDA рецепторов, а функциональная активность этих рецепторов напрямую зависит от субъединичного состава [3; 4].

Целью работы было оценить изменение экспрессии генов, кодирующих разные субъединицы NMDA и AMPA рецепторов в вентральном и дорсальном гиппокампе крыс разных возрастных групп в депрессивно-подобном состоянии (ДПС).

Для моделирования ДПС самцы крыс Wistar возрастом 3, 10 и 20 месяцев подвергались процедуре хронического непредсказуемого стресса (ХНС), включающей предъявление чередующихся коротких и длительных умеренных стрессовых стимулов на протяжении 7 недель. Для оценки развития ДПС применяли тест предпочтения сахарозы, поведенческие тесты (тест «открытое поле» и тест принудительного плавания) и измеряли уровень кортикостерона в плазме крови методом ИФА. Изменения экспрессии генов субъединиц AMPA и NMDA рецепторов оценивали методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Процедура ХНС привела к развитию ангедонии и состоянию «поведенческого отчаяния» у крыс. В плазме крови животных всех возрастных групп после ХНС наблюдалось увеличение уровня кортикостерона, что в совокупности с результатами поведенческих тестов подтвердило развитие ДПС. В вентральном гиппокампе 10- и 20-месячных крыс в ДПС уровни экспрессии генов *Grin2a* и *Grin2b* снижались по отношению к гену *Grin1*, что указывает на изменение субъединичного состава NMDA рецепторов и преобладание минорных субъединиц. В вентральном гиппокампе 3-месячных крыс увеличивалась экспрессия генов *Grin2c* и *Gria3*. В дорсальном гиппокампе 10-месячных крыс снижалась экспрессия генов *Grin1* и *Grin2a*. В группе 10-месячных крыс также было выявлено достоверное снижение уровня экспрессии гена *Gria3*, кодирующего субъединицу GluA3 AMPA рецепторов. В группе 20-месячных крыс обнаружено достоверное снижение экспрессии гена *Gria2*.

Таким образом, при развитии ДПС в разных возрастных группах крыс наблюдались различные изменения экспрессии генов субъединиц NMDA и AMPA рецепторов, что может свидетельствовать о разных возрастных нейробиологических особенностях этого заболевания.

**Работа выполнена в соответствии с гос. заданием ИЭФБ РАН
№ 075-00264-24-00.**

Список литературы

1. Lepine J.P. The increasing burden of depression/ Lepine J.P., Briley M. // Neuropsychiatric disease and treatment. — 2011. — V. 7. — No sup1. — P. 3–7.
2. Schaakxs R. Associations between age and the course of major depressive disorder: a 2-year longitudinal cohort study/ Schaakxs R., Comijs H. C., Lamers F., Kok R. M., Beekman A. T., Penninx B. W. // The Lancet Psychiatry. — 2018. — V. 5. — No 7. — P. 581–590.
3. Bhatia N. Y. Importance of exploring n-methyl-d-aspartate (NMDA) as a future perspective target in depression/ Bhatia N. Y., Ved H. S., Kale P. P., Doshi G. M. // CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders). — 2022. — V. 21. — No 10. — P. 1004–1016.
4. Lee M. T. Neurobiology of depression: chronic stress alters the glutamatergic system in the brain—focusing on AMPA receptor/ Lee M. T., Peng W. H., Kan H. W., Wu C. C., Wang D. W., Ho Y. C. // Biomedicines. — 2022. — V. 10. — No 5. — P. 1005.

EXPRESSION OF NMDA AND AMPA RECEPTOR GENES IN THE VENTRAL AND DORSAL HIPPOCAMPUS OF RATS OF DIFFERENT AGE GROUPS IN DEPRESSIVE-LIKE STATE

Abstract. Depressive-like state (DLS) in rats is accompanied by a change in the expression of genes of subunits of ionotropic glutamate AMPA and NMDA receptors in the dorsal and ventral hippocampus, which indicates a modulation of the subunit composition of receptors, which directly affects their functional activity. With the development of DLS, various changes in expression were observed in different age groups of rats, which may indicate different age-related neurobiological features of this disease.

Key words: depressive disorder, depressive-like state, AMPA, NMDA.

ВЛИЯНИЕ РАННЕГО НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ОРИГИНАЛЬНОГО ТЕТРАПЕПТИДА АС-D-MPRG НА СОЦИАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС

DOI 10.24412/CL-37228-2024-59-61

А. А. Стаханова^{1,2}, О. Г. Воскресенская¹

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
г. Москва, Россия

²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

E-mail: anna.stahanova@inbox.ru

Аннотация. Синтетический аналог фрагмента аргинин-вазопрессина(6-9) — Ас-D-MPRG при хроническом неонатальном введении оказывает положительное влияние на социальное поведение крыс. Коэффициент социального взаимодействия и время проведенное с незнакомой крысой увеличивается у самцов крыс получавших тетрапептид в дозе 10 мкг/кг. Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что Ас-D-MPRG действительно обладает отставленным действием, которое зависит от дозы неонатально введенного вещества и пола тестируемых животных.

Ключевые слова: вазопрессин, социальное поведение, крысы, пептидные препараты.

В настоящее время регуляторные пептиды являются наиболее интенсивно изучаемым классом биологически активных веществ. Интерес вызван тем, что представители этой группы прямо или опосредованно воздействуют на физиологические процессы, а любое нарушение в деятельности пептидной регуляторной системы может привести к развитию целого ряда патологических реакций организма. Среди пептидов есть гормон аргинин-вазопрессин (АВП), а также его фрагменты и аналоги. Установлено, что некоторые фрагменты и искусственно синтезированные аналоги природных пептидов часто обладают более выраженным действием, чем сами прототипы. На основании конформационного анализа, проведенного профессором В.П. Голубовичем, в институте биоорганической химии НАН Беларуси был синте-

зирован оригинальный тетрапептид Ac-D-Met-Pro-Arg-Gly-NH₂ (Ac-D-MPRG).

Опыты проводились на детенышах крыс. Крысят каждого выводка делили на две группы: контрольную — вводили растворитель (дистиллированную воду) и опытную — вводили раствор исследуемого пептида хронически с 3-го по 7-й дни жизни в дозах 1,0 и 10 мкг/кг. Использовали интраназальный способ введения. Крысята каждого выводка содержались в отдельной клетке вместе с матерью до достижения ими месячного возраста, после чего крысят отсаживали от матери. В работе использовали стандартный поведенческий тест «Социальное поведение» в модификациях: мама/чужая самка на 22 день жизни, сибс/не сибс на 32 день жизни.

Изменения в социальном поведении были обнаружены только в модификации теста «Сибс/не сибс». После введения Ac-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг у самок опытной и контрольной групп различий не наблюдалось. В опытной группе самцов по сравнению с контрольной группой увеличен пробег ($p=0,030$) и увеличено суммарное взаимодействие с чужаком (количество подходов + количество контактов + количество подъемов на решетчатую перегородку) ($p=0,005$). Коэффициент взаимодействия — это отношение времени, проведенного с чужаком, к суммарному времени взаимодействия с обеими крысам. У опытных самцов коэффициент взаимодействия сдвинут в сторону изучения нового объекта ($p=0,02$), что проявляется в снижении времени взаимодействия с сибсом ($p=0,04$) и увеличении времени взаимодействия с не сибсом ($p=0,02$).

Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что оригинальный тетрапептид Ac-D-MPRG действительно обладает отставленным действием, которое зависит от дозы неонатально введенного вещества и возраста тестируемых животных. Кроме того, наблюдаются половые различия в действии Ac-D-MPRG.

Список литературы

1. Barak B., Feng G. Neurobiology of social behavior abnormalities in autism and Williams syndrome// *Natural Neuroscience*. — 2016. — No 19. — P. 647–655.
2. Bellis M. D. Sex differences in brain maturation during childhood and adolescence// *Cerebral Cortex*. — 2001. — No 11. — P. 552–557.

THE EFFECT OF EARLY NEONATAL ADMINISTRATION OF THE ORIGINAL TETRAPEPTIDE AC-D-MPRG ON THE SOCIAL BEHAVIOR OF WHITE RATS

Abstract. A synthetic analogue of the arginine vasopressin fragment(6-9), Ac-D-MPRG, with chronic neonatal administration has a positive effect on the social behavior of rats. The coefficient of social interaction and time spent with a non-sibling (a strange unfamiliar rat) increases in male rats treated with tetrapeptide at a dose of 10 µg/kg. Thus, our results allow us to conclude that Ac-D-MPRG does have a delayed effect, which depends on the dose of the neonatally administered substance and the sex of the tested animals.

Key words: vasopressin, social behavior, rats, peptide drugs.

ВЛИЯНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА НА ОБОНЯНИЕ У КРЫС ЛИНИИ WISTAR

DOI 10.24412/CL-37228-2024-62-64

А. В. Горская

Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова

РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: anna.v.gorskaya@gmail.com

Аннотация. В нашем исследовании мы оценивали влияние диабета 2 типа (СД2) на обонятельную способность крыс линии Wistar. Были использованы тест результативности поиска пищи и тест на предпочтение запахов. Результаты тестов показывают, что СД2 у крыс линии Wistar приводит к развитию гипосмии и преимущественно влияет на основную обонятельную систему.

Ключевые слова: обоняние, диабет, крысы, поведенческие тесты.

Снижение обоняния может быть одним из ключевых признаков широкого спектра нарушений. Так, ухудшение обонятельной функции может возникнуть как макро- или микрососудистое осложнение или дисфункция центральной нервной системы при диабете [1; 2]. Однако на обонятельную систему в клинической практике обращают внимание реже, чем на зрительную или слуховую. Гипосмия чаще встречается при диабете 2 типа (СД2) и характеризуется снижением способности распознавать запахи, ухудшением памяти на обонятельные стимулы. Её развитие связывают с нарушением нейрогенеза и дифференцировки незрелых нейронов и изменением активности ГАМКергических интернейронов в определённых областях мозга [3; 4]. При этом данных о развитии гипосмии в условиях экспериментальных моделей СД2 на грызунах крайне мало. Целью нашей работы было исследование обонятельной функции на никотин-стрептозотоциновой модели СД2 у крыс.

Диабет 2 типа моделировали стрептозотоцином (внутрибрюшинно — 65 мг/кг) с предварительным (за 15 мин.) внутрибрюшинным введением никотинамида (230 мг/кг) [5]. Для оценки обонятельной функции животных использовали поведенческие тесты: оценка результативности поиска пищевых объектов зары-

тых в опилки и тест на предпочтение запахов. Результативность поиска оценивали по количеству обнаруженных кусочков корма. Также оценивали время, затраченное на их нахождение и число обнюхиваний всех отверстий на полу камеры. В тесте на предпочтение запахов оценивали количество подходов к одной из восьми стеклянных площадок, содержащих эфирные масла апельсина, гвоздики, жасмина, мяты, эвкалипта, полыни, лаванды или валерианы в объеме 0,1 мл.

По результатам проведенного поведенческого теста крысам с диабетом 2 типа требовалось больше времени на поиск пищевых объектов, чем контрольной группе. Результативность поиска у контрольной в 1,55 раза превышала таковую у группы с индуцированным диабетом 2 типа. Показатели исследовательской активности у крыс обеих групп достоверно не различались. Таким образом, тест на результативность поиска пищи показал, что развитие диабета 2 типа у крыс оказывало негативное влияние на обоняние. Это позволяет предположить, что для данной модели СД2 на крысах характерно развитие гипосмии.

По результатам теста на предпочтение запахов изменились предпочтения биологически-индифферентных одорантов, в то время как предпочтение феромонного миметика (валериана) перед биологически-индифферентными одорантами сохранилось. Таким образом, результаты теста распознавания одорантов указывают на преимущественное влияние СД2 на основную обонятельную систему, нежели на дополнительную.

Выполнено в рамках Госзадания 075-00264-24-00.

Список литературы

1. Gouveri E., et al. Olfactory dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an additional manifestation of microvascular disease?// *Angiology*. — 2014. — V. 65. — No 10. — P. 869–876.
2. Várkonyi T., et al. Olfactory dysfunction in diabetes: a further step in exploring central manifestations of neuropathy?// *Angiology*. — 2014. — V. 65. — No 10. — P. 857–860.
3. King A. J. F. The use of animal models in diabetes research// *British journal of pharmacology*. — 2012. — V. 166. — No 3. — P. 877–894.
4. Lietzau G., et al. Type 2 diabetes impairs odour detection, olfactory memory and olfactory neuroplasticity; effects partly reversed by the DPP-4 inhibitor Linagliptin// *Acta neuropathologica communication*. — 2018. — V. 6. — P. 1–15.

5. Islam S., Choi H. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study // Pharmacology. — 2007. — No 79. — P. 243–249.

THE EFFECT OF TYPE II DIABETES MELLITUS ON THE SENSE OF SMELL IN WISTAR RATS

Abstract. In our study, we evaluated the effect of type 2 diabetes (T2D) on the olfactory ability of Wistar rats. A food search performance test and a smell preference test were used. The test results show that T2D in Wistar rats leads to the development of hypoxemia and predominantly affects the basic olfactory system.

Key words: sense of smell, diabetes, rats, behavioral tests.

ТРАНСПОРТЁРЫ SNAT-1 И SNAT-2, МТОРС И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА В МОЗГЕ В УСЛОВИЯХ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-65-67

А. В. Горбова¹, А. В. Михель^{1,2}, А. Д. Щербицкая^{1,2},
С. К. Бочковский¹, В. А. Дудина¹, В. А. Пода¹

¹Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродук-
тологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

²Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И. М. Сеченова
РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: alekss137@mail.ru

Аннотация. Исследование сфокусировано на влиянии пренатальной гипергомоцистеинемии (ПГГЦ) на систему А и mTORC; также было решено уделить внимание элементам метаболизма метионина и ГЦ, изменению уровня MDA и ОМБ в мозге плода на 20 день эмбрионального развития. Полученные данные сигнализируют о том, что ПГГЦ не приводит к выраженному устойчивому дисбалансу аминокислот в мозге плода, требующих активации системы mTORC, также было зафиксировано, что ПГГЦ приводит к понижению уровня 4EBP-1 и повышению уровня MDA, что указывает на угнетение процесса синтеза белка.

Ключевые слова: пренатальная гипергомоцистеинемия, плод, S-аденозил-метионин, S-аденозил-гомоцистеин, mTORC, SNAT-1, SNAT-2, 4EBP-1.

Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) — это патологическое состояние, характеризующееся повышенным содержанием гомоцистеина (ГЦ) в крови. Особенно опасна пренатальная ГГЦ, так как она способна провоцировать отставленные когнитивные дисфункции у потомства. Известно, что ГЦ может преодолевать фето-плацентарный барьер и обнаруживаться в мозге плода. Накопление ГЦ в организме ведёт к нарушению клеточного транспорта. Среди вариантов доставки аминокислот в клетку выделяют систему А и её представителей, SNAT-1 и SNAT-2. Особенно важно их присутствие в нейронах и клетках нейроглии, где они принимают участие в поддержании

функций мозга. Известно, что комплекс mTOR (mTORC) активен в присутствии аминокислот, контролирует метаболизм клетки, а также способствует клеточному росту и выживанию за счет активации нижестоящих белков, 4EBP-1 и rpS6 [1]. Метионин, необходимый для синтеза S-adenosyl-L-methionine (SAM), как и ГЦ, транспортируется системой А. Поддержание баланса между SAM и S-adenosyl-homocysteine (SAH) критически важно для должного клеточного функционирования [3]. Клеточный стресс может вызывать перекисное окисление белков, липидов и нуклеиновых кислот [2]. Влияние материнской ГЦ активно исследуется, и в настоящее время уже известен ряд механизмов, однако вопрос о влиянии ГЦ на регуляцию клеточного метаболизма в целом и работу транспортёров в частности всё ещё остаётся открытым.

Самок крыс линии Wistar разделили на две группы: контрольной группе с 4-го по 20-й день беременности (E4-E20) перорально вводили воду, подопытной — раствор метионина. Мозг плода был извлечён на E20. Содержание ГЦ в мозге плода было измерено иммунохимическим анализом. Уровень компонентов mTORC (mTOR, p-mTOR, rpS6, p-rpS6, 4EBP-1), а также SNAT-1 и SNAT-2 был измерен методом Western-Blotting. Для оценки содержания SAM и SAH использовали метод иммуноферментного анализа. Содержание малонового диальдегида (MDA) и окислительных модификаций белков (ОМБ) измеряли колориметрическим методом по реакции с тибарбитуровой кислотой и набором OxyBlot соответственно.

Продемонстрировано повышение уровня ГЦ в мозге плода на E20 уже через 1 час после введения метионина матерям и возвращение к исходным значениям через 18 часов. Также установлено повышение уровня MDA в подопытной группе без изменения уровня ОМБ в мозге. Изменений в уровнях SAM, SAH и их соотношении, а также в содержании транспортёров SNAT-1, SNAT-2 обнаружено не было. В системе mTORC наблюдалось только снижение уровня 4EBP-1 в группе с материнской ГЦ. Снижение уровня 4EBP-1, ответственного за 5'-кэп-зависимую трансляцию, и повышение содержания маркера окислительного стресса MDA могут указывать на нарушения в процессе синтеза белка и его чрезмерное разрушение, что, вероятно, приводит к дисфункции клеточного метаболизма в мозге плода в условиях пренатальной ГЦ. При этом полученные данные выступают в пользу предположения о том, что ГЦ матери, вызванная метиониновой нагрузкой, не приводит к выраженному устойчивому хроническому дисбалансу аминокис-

лот в мозге плода, в том числе ГЦ и метионина, требующих активации системы mTORC и изменению содержания транспортеров, что предположительно указывает на высокую активность ферментов метионинового цикла в мозге плода.

Выполнено при поддержке РФФ (№22-15-00393).

Список литературы

1. Bockaert J. mTOR in Brain Physiology and Pathologies / Bockaert J. and Philippe M. // *Physiological reviews*. — 2015. — P. 1157–1187.
2. Marnett L. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde / Marnett L. // *Mutation research*. — 1999. — P. 83–95.
3. Weickhmann K. The structure of the SAM/SAH-binding riboswitch / Weickhmann K., Keller H. // *Nucleic acids research*. — 2019. — P. 2654–2665.

SNAT-1 AND SNAT-2 TRANSPORTERS, MTORC AND OXIDATIVE STRESS IN THE REGULATION OF CELLULAR METABOLISM IN THE BRAIN UNDER CONDITIONS OF PRENATAL HYPERHOMOCYSTEINEMIA

Abstract. The study focused on the effect of prenatal hyperhomocysteinemia (PHHC) on the A system and mTORC; it was also decided to pay attention to the elements of methionine and homocysteine (HC) metabolism, changes in the level of malondialdehyde (MDA) and oxidative protein modifications (OPM) in the fetal brain on day 20 of embryonic development. The data obtained indicate that PHHC does not lead to a pronounced stable imbalance of amino acids in the fetal brain requiring activation of the mTORC system, it has also been recorded that PHHC leads to a decrease in the level of 4EBP-1 and an increase in the level of MDA, which indicates inhibition of the protein synthesis process.

Key words: prenatal hyperhomocysteinemia, fetus, S-adenosylmethionine, S-adenosylhomocysteine, mTORC, SNAT-1, SNAT-2, 4EBP-1.

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ПОВЕДЕНИЕ *Danio rerio*

DOI 10.24412/CL-37228-2024-68-70

А. Д. Буглинина¹, Т. О. Колесникова¹, А. М. Москаленко¹,
А. Н. Икрин¹, Н. О. Прохоренко¹, Д. С. Галстян²,
А. В. Калуев¹

¹Научно-технический университет «Сириус», Федеральная территория
Сириус, Россия

²ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург,
Россия

E-mail: adbuglinina@gmail.com

Аннотация. Самцы и самки *Danio rerio* подвергались воздействию 5-недельного хронического непредсказуемого стресса. Тревожность и склонность к агрессии у рыб оценивались с помощью поведенческих тестов, таких как новый аквариум и зеркальный тест. Согласно полученным результатам, большей чувствительностью к воздействию хронического стресса обладают самцы.

Ключевые слова: *Danio rerio*, хронический стресс, поведение, половые различия.

Стресс является одной из наиболее актуальных проблем современного общества. Хронический стресс может приводить к разным заболеваниям, в том числе и психическим [4], наиболее распространенными среди которых являются депрессивные и тревожные расстройства [1; 3]. Однако гендерные различия во влиянии стресса на ментальное состояние не изучены достаточно хорошо. Животные модели, среди которых одно из ведущих мест занимают *Danio rerio* [2], могут помочь расширить представления о влиянии стресса на организм человека. Данная работа посвящена изучению воздействия 5-недельного хронического непредсказуемого стресса на поведение самцов и самок *Danio rerio*.

Самцы и самки *Danio rerio* в течении 5 недель подвергались воздействию разных стрессоров. В качестве поведенческих методик

использовались: тест нового аквариума (НТТ), в котором оценивалась частота, общее время и латентность выхода в верхнюю зону, а также пройденная дистанция и общая подвижность; зеркальный тест на агрессию, в котором рассматривались частота, латентность и общее время нахождения в зонах близких и удаленных от зеркала. Статистическая обработка методами Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни и ANOVA.

По итогам статистической обработки результатов НТТ были выявлены значимые различия в группе самцов после хронического стресса в частоте, общем времени нахождения и латентности выхода в верхнюю зону, а также в пройденной дистанции и общей подвижности ($p < 0,05$), причем контрольная группа раньше вышла в верхнюю часть аквариума и провела там больше времени, показывая при этом большую активность. Помимо этого различия были обнаружены между экспериментальными группами самцов и самок в частоте выхода в верхнюю зону, пройденном расстоянии и общей подвижности, самки при этом были активнее самцов. Влияние хронического стресса на агрессию не показало статистически значимых различий как при сравнении особей разного пола, так и при общем сравнении контрольных и экспериментальных групп. Полученные результаты свидетельствуют о большей чувствительности самцов к воздействию хронического стресса.

*Работа выполнена при поддержке
Российского Научного Фонда № 23-25-00246.*

Список литературы

1. Hidaka B. H. Depression as a disease of modernity: explanations for increasing prevalence // Journal of affective disorders. — 2012. — V. 140. — No 3. — P. 205–214.
2. Khan F. R., Alhewairini S. S. Zebrafish (Danio rerio) as a model organism // Current trends in cancer management. — 2018. — V. 27. — P. 3–18.
3. Martin P. The epidemiology of anxiety disorders: a review // Dialogues in clinical neuroscience. — 2003. — V. 5. — No 3. — P. 281–298.
4. McEwen B. S. Neurobiological and systemic effects of chronic stress // Chronic stress. — 2017. — V. 1. — P. 2470547017692328.

GENDER DIFFERENCES IN THE EFFECTS OF CHRONIC STRESS ON BEHAVIOR *DANIO RERIO*

Abstract. Males and females of *Danio rerio* were exposed to 5 weeks of chronic unpredictable stress. Anxiety and propensity to aggression in fish were assessed using behavioral tests, such as “New Aquarium” and “Mirror Test”. According to the results obtained, males are more sensitive to the effects of chronic stress.

Key words: *Danio rerio*, chronic stress, behavior, gender differences.

АНКСИОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА МУХОМОРА (*AMANITA MUSCARIA*) НА ЗЕБРАДАНИО (*DANIO RERIO*)

DOI 10.24412/CL-37228-2024-71-73

Н. О. Прохоренко, В. Д. Рига, А. Э. Махортых,
Т. О. Колесникова, А. В. Калуев

Научно-технический университет «Сириус», Федеральная территория

Сириус

E-mail: nickpro070@gmail.com

Аннотация. Острое и хроническое воздействие экстрагированного в DMSO сушеного мухомора (*Amanita muscaria*) на поведение *Danio rerio* привело к повышению тревожно-подобного поведения у рыб в тесте нового аквариума и тесте на построение косяка.

Ключевые слова: *Amanita muscaria*, *Danio rerio*, поведение, тревожность.

В современном обществе набирает популярность употребление биологически активных добавок (БАД) [3], в список которых входит мухомор (*Amanita muscaria*) [2]. Однако количество исследований, касающихся употребления сушеного мухомора на состояние организма, довольно мало, что оставляет не полностью раскрытым вопрос о безопасности его применения. Для тестирования разного рода фармакологических препаратов обычной практикой является использование лабораторных животных, среди которых популярным модельным организмом является *Danio rerio* [1; 4], преимуществом которого является схожесть рецепторов с человеческими и наличие основных систем нейромедиаторов, а также прозрачность эмбрионов, быстрый цикл развития, чувствительность к основным классам нейротропных веществ, простота содержания и возможность проводить скрининг на большой выборке животных. Данная работа посвящена изучению острого и хронического воздействия *Amanita muscaria* на поведение зебраданио.

Сушеный *Amanita muscaria* был приобретен у коммерческого дистрибьютора на одной из популярных интернет-площадок.

Особь *Danio rerio* подвергались острой (20 минут, в дозах 300 мг/л и 600 мг/л) и хронической (7 дней, в дозах 100 мг/л, 200 мг/л и 300 мг/л) экспозиции экстрагированного в DMSO сушеного мухомора. В качестве поведенческих методик были использованы: тест нового аквариума (NTT), в котором оценивалась частота, общее время и латентность выхода в верхнюю зону, а также пройденная дистанция и общая подвижность; тест на построение косяка (ST), в котором оценивались площадь косяка и расстояние между особями. Статистическая обработка проводилась при помощи критериев Краскела-Уоллиса для межгруппового сравнения и Манна-Уитни для попарного сравнения.

По итогам статистической обработки результатов NTT группа, находившаяся под острым воздействием *Amanita muscaria* в концентрации 600 мг/л, реже находилась в верхней части аквариума по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Помимо этого группа, находившаяся под хроническим воздействием сушеного мухомора в концентрации 200 мг/л, статистически значимо прошла меньшее расстояние ($p < 0,05$), реже выходила в верхнюю часть аквариума ($p < 0,01$) и больше времени провела в обездвиженном состоянии ($p < 0,01$). Группа, находившаяся под хронической экспозицией 300 мг/л экстракта из *Amanita muscaria*, отличалась от контроля только в более продолжительном времени иммобилизации ($p < 0,05$). Также было замечено изменение траектории движения: рыбы плавали стереотипно от стенки к стенке. Результаты обработки ST показали статистически значимые различия между группой, находящейся под экспозицией 200 мг/л сушеного мухомора, и контрольной группой в расстоянии между рыбами и продолжительности контакта с телом другой особи. При этом рыбы опытной группы имели более продолжительные контакты ($p < 0,01$) и меньшее расстояние между особями ($p < 0,01$). Данные результаты указывают на увеличение тревожности у особей *Danio rerio*, находившихся под острым и хроническим воздействием экстракта из *Amanita muscaria*. К тому же стоит отметить высокую смертность рыб, находившихся под хроническим воздействием экстракта в концентрации 300 мг/л.

Список литературы

1. Khan F.R., Alhewairini S.S. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism // Current trends in cancer management. — 2018. — V. 27. — P. 3–18.

2. Michelot D., Melendez-Howell L.M. *Amanita muscaria*: chemistry, biology, toxicology, and ethnomycology// *Mycological research*. — 2003. — V. 107. — No 2. — P. 131–146.
3. Rautiainen S., et al. Dietary supplements and disease prevention—a global overview// *Nature Reviews Endocrinology*. — 2016. — V. 12. — No 7. — P. 407–420.
4. Williams F.E., Messer Jr W.S. Muscarinic acetylcholine receptors in the brain of the zebrafish (*Danio rerio*) measured by radioligand binding techniques// *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. — 2004. — V. 137. — No 4. — P. 349–353.

THE ANXIOGENIC EFFECT OF FLY AGARIC EXTRACT (*AMANITA MUSCARIA*) ON ZEBRA DANIO (*DANIO RERIO*)

Abstract. The acute and chronic effects of dried fly agaric (*Amanita muscaria*) extracted in DMSO on the behavior of *Danio rerio* led to an increase in anxiety-like behavior in fish in the “New Aquarium” test and the “Shoaling” test.

Key words: *Amanita muscaria*, *Danio rerio*, behavior, anxiety.

МОДУЛЯЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ПРОНИЦАЕМЫХ АМРА РЕЦЕПТОРОВ АЗОБЕНЗОЛ-СОДЕРЖАЩИМ ПРОИЗВОДНЫМ СПЕРМИНА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-74-76

Э. Д. Гатаулина

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова
РАН, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: maileen2013@yandex.ru

Аннотация. В данной работе было исследовано действие азобензол-содержащего фоточувствительного полиамина на различные типы нативных глутаматных рецепторов (NMDA, Ca^{2+} проницаемые/непроницаемые АМРА рецепторы). Было показано, что вещество оказывает угнетающее действие на токи через глутаматные рецепторы. Наиболее активно оно оказалось по отношению к Ca^{2+} проницаемым АМРА рецепторам, где действовало по механизму блока открытого ионного канала. Наши данные открывают перспективы создания высокоселективных блокаторов кальций-проницаемых АМРА рецепторов для контроля их активности с высоким пространственным и временным разрешением.

Ключевые слова: фотофармакология, фотопереключаемый лиганд, ионные каналы, АМРА-рецепторы, глутаматные рецепторы, блокатор.

АМРА глутаматные рецепторы — это лиганд-управляемые ионные каналы, которые обеспечивают быстрые процессы возбуждения в ЦНС. Существует два подтипа АМРА рецепторов: Ca^{2+} -проницаемые и Ca^{2+} -непроницаемые. Ca^{2+} -проницаемые АМРА рецепторы играют важную роль в синаптической пластичности и патологии. Для изучения функций этих рецепторов используются селективные антагонисты — блокаторы ионных каналов (внутриклеточные полиамины, природные полиаминные токсины, а также синтетические блокаторы) [1]. Однако экспериментальное использование «традиционных» блокаторов зачастую имеет ограничения вследствие медленного развития и неполной обратимости действия. Для решения этой проблемы могут быть использованы светочувствительные блокаторы, действие которых можно контролировать

с высочайшим временным и пространственным разрешением [2]. Примером такого соединения является новый препарат, азобензол-содержащее производное спермина (азо-спермин). Благодаря фоточувствительной группе это соединение обладает свойством фотоизомеризации, т.е. в зависимости от светового окружения может существовать в *транс*- или *цис*-состоянии. Предполагается, в *транс*-состоянии оно может проникать внутрь канала и блокировать ток ионов. Данная работа посвящена экспериментальному тестированию действия азо-спермина на Ca^{2+} -проницаемых, а также других типах глутаматных рецепторов.

Мы провели электрофизиологические эксперименты на изолированных нейронах гиппокампа и стриатума крысы. Для оптического контроля использовали монохроматический свет (410 нм). В условиях комнатного освещения вещество в концентрации 1 мкМ вызывало глубокое угнетение Ca^{2+} -проницаемых AMPA рецепторов на уровне 80–90% от контрольного ответа. При облучении светом ответы полностью восстанавливались до контрольного значения. При выключении засветки амплитуда ответов быстро возвращалась к исходному уровню блока. Действие вещества было концентрационно-зависимым, а наибольшее падение активности в свете наблюдалось в широком диапазоне концентраций 0,5–10 мкМ. Активность соединения резко зависела от мембранного потенциала фиксации, что свидетельствует в пользу блокады ионного канала. При гиперполяризации мембраны (от –70 мВ до –140 мВ) как в темноте, так и в освещении наблюдался феномен «проваливания» вещества внутрь клетки, характерная черта классических блокаторов Ca^{2+} -проницаемых AMPA рецепторов.

На Ca^{2+} -непроницаемых AMPA рецепторах действие было слабым, 10 мкМ вызывало 10–15% угнетения ответа. В случае NMDA рецепторов также наблюдалось светозависимое угнетение ответов, однако активность была на порядок ниже по сравнению с Ca^{2+} -проницаемыми рецепторами. Действие на NMDA рецепторы также опосредуется каналоблокадой, однако существует дополнительный участок связывания вне полости канала.

Таким образом, азо-спермин является высокоселективным антагонистом Ca^{2+} -проницаемых AMPA рецепторов, при этом его активность можно контролировать с помощью света. Использование этого соединения в нейрофизиологических экспериментах открывает новые возможности для изучения функций Ca^{2+} -проницаемых AMPA рецепторов в норме и при патологических состояниях.

Список литературы

1. Hansen K.B. Structure, Function, and Pharmacology of Glutamate Receptor Ion Channels/ Hansen K.B., Wollmuth L.P., Bowie D., Furukawa H., Menniti F.S., Sobolevsky A.I., Swanson G.T., Swanger S.A., Greger I.H., Nakagawa T., McBain C.J., Jayaraman V., Low C.M., Dell'Acqua M.L., Diamond J.S., Camp C.R., Perszyk R.E., Yuan H., Traynelis S.F.// Structure, Pharmacol Rev. — 2021 — No 73 (4) — P. 298–487.
2. Nin-Hill A. Photopharmacology of Ion Channels through the Light of the Computational Microscope/ Nin-Hill A., Mueller N.P.F., Molteni C., Rovira C., Alfonso-Prieto M.// Int J Mol Sci. — 2021 — No 8 (22) — P. 12072.

MODULATION OF CALCIUM-PERMEABLE AMPA RECEPTORS BY AZOBENZENE-CONTAINING DERIVATIVES OF SPERMINE

Abstract. In this work, the effect of azobenzene-containing photosensitive polyamine on various types of native glutamate receptors (NMDA, Ca²⁺ permeable/impermeable AMPA receptors) was investigated. It has been shown that the substance has a depressing effect on currents through glutamate receptors. It turned out to be most active in relation to Ca²⁺ permeable AMPA receptors, where it acted by the mechanism of an open ion channel block. Our data open up prospects for the creation of highly selective calcium-permeable AMPA receptor blockers to control their activity with high spatial and temporal resolution.

Key words: photopharmacology, photo-switchable ligand, ion channels, AMPA receptors, glutamate receptors, blocker.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ПЯТИ РЕГИОНОВ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И ПРИМАТОВ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-77-79

М. С. Ланцова¹, М. С. Осетрова², О. И. Ефимова²,
Н. А. Аниканов², А. И. Митина², Д. А. Сенько²,
Е. А. Стекольников², Е.Е. Храмева², Ф. Е. Хайтович²

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Центр нейробиологии и нейрореабилитации Сколтеха имени Зельмана,
Москва, Россия

E-mail: Lantsovams@gmail.com

Аннотация. Мы провели детальное изучение различий липидного состава головного мозга между человеком и его ближайшими родственниками: шимпанзе, бонобо и макаками на основании данных масс-спектрометрического анализа липидов в пяти различных репрезентативных регионах мозга. Обнаружены различия в профилях липидов, в целом пропорциональные эволюционным расстояниям между видами, выявлены наиболее эволюционно значимые классы липидов. Показана согласованность между изменениями в белом и сером веществе, однако наблюдаются и специфические изменения. Наши результаты показывают потенциальную значимость липидов в эволюции мозга человека.

Ключевые слова: липидомика, эволюция, масс-спектрометрия, головной мозг, биоинформатика.

Липиды играют важную роль в структуре и функционировании тканей и клеток. В человеческом мозге они составляют почти 60% сухой массы [1]. Регулируя химические и механические свойства мембран, липиды оказывают влияние на процессы слияния и деления везикул, поток ионов, а также латеральную диффузию мембранных белков. Гетерогенный состав мембран клеток мозга определяет их специфические функции, передачу сигналов и другие процессы [2]. Поэтому изучение липидома имеет важное значение для понимания работы нервных клеток, эволюционных различий между видами и особенностей строения мозга человека.

В данной работе мы провели детальное изучение различий липидного состава головного мозга между человеком и его ближайшими родственниками: шимпанзе, бонобо и макаками на основании данных масс-спектрометрического анализа липидов в пяти различных репрезентативных регионах мозга. Наша цель состояла в том, чтобы: (а) определить изменения липидного состава регионов мозга, значимо отделяющие человека от других приматов; и (б) более обще исследовать общие принципы эволюционных изменений липидного состава мозга среди приматов.

Пять регионов мозга, использованных в исследовании, включали: серое вещество мозжечка, дорсолатеральную префронтальную кору (зона Бордмана 9), хвостатое ядро, внутреннюю капсулу и переднюю часть мозолистого тела. В результате анализа масс спектрометрических данных в этих регионах была определена относительная представленность 463 липидов, принадлежащих к 21 классу. Дальнейший анализ показал разделение серого и белого вещества с помощью метода главных компонент (PCA) и метода стохастического вложения соседей с t -распределением (tSNE). Для дальнейших этапов анализа был выполнен однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с фактором группы — видом, с поправкой на множественное сравнение Бенъямини-Хохберга.

В соответствии с предсказаниями теории молекулярной эволюции, наибольшие по амплитуде изменения обнаружены между человеком и макакой, показана их корреляция с аналогичными изменениями между человекообразными обезьянами и макакой, а также человеком и человекообразными обезьянами. Далее, амплитуды изменений уменьшаются по мере уменьшения эволюционного расстояния. При помощи метода k -средних были выделены кластеры липидов, у которых наблюдалось повышение/понижение концентрации в ряду макака — человекообразные обезьяны — человек, а также те, которые не менялись в этом ряду, но отличали бонобо и шимпанзе друг от друга.

Анализ с использованием гипергеометрического теста показал, что липиды, демонстрирующие изменения концентрации между видами, были обогащены узкой группой классов липидов: фосфатидилхолинами, эфирами холестерина и жирными кислотами — для мозга в целом. Для серого вещества изменения концентрации были обогащены лизофосфатидилхолинами, лизофосфатидилсеринами и эфирами холестерина и жирными кислотами, а для белого вещества значимого обогащения не наблюдалось.

Сходимость данных с результатами усреднения по мозгу и по белому и серому веществу была проверена для всех регионов и для всех пар сравнения fold-changes. Специфичные для человека изменения липидома были неравномерно распределены между областями мозга: дорсолатеральная префронтальная кора выделялась многократным превышением специфичных для человека изменений среди липидов, тогда как для мозжечка и внутренней капсулы (при том же пороге отсеечения p value adjusted $< 0,05$) значимых пиков не было обнаружено. Наши результаты показывают потенциальную значимость липидов в эволюции мозга человека.

Список литературы

1. Chang C. Y., Ke D. S., Chen J. Y. Essential fatty acids and human brain// Acta Neurol Taiwan. — 2009 Dec. — No 18(4). — P. 231–241. — PMID: 20329590.
2. Jacobson K., Mouritsen O. & Anderson R. Lipid rafts: at a crossroad between cell biology and physics// Nat Cell Biol. — 2007. — No 9. — P. 7–14. — <https://doi.org/10.1038/ncb0107-7>.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE LIPID PROFILE OF FIVE BRAIN REGIONS OF THE HUMAN AND PRIMATE BRAINS

Abstract. We conducted a detailed study of the differences in the lipid composition of the brain between humans and their closest relatives: chimpanzees, bonobos and macaques based on data from mass spectrometric analysis of lipids in five different representative regions of the brain. Differences in lipid profiles were found, generally proportional to the evolutionary distances between species, and the most evolutionarily significant classes of lipids were identified. Consistency between changes in white and gray matter is shown, but specific changes are also observed. Our results show the potential importance of lipids in the evolution of the human brain.

Key words: lipidomics, evolution, mass spectrometry, brain, bioinformatics.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНА *SH3GL2* В НЕЙРОГЕНЕЗЕ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-80-82

А. О. Моторина¹, М. С. Гавриш¹, С. А. Тутукова¹,
В. С. Тарабыкин²

¹Научно-исследовательский институт нейронаук, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

²Институт клеточной биологии и нейробиологии, Медицинский университет Шарите, Берлин, Германия

E-mail: a_motorina99@mail.ru

Аннотация. Изучив локализацию экспрессии гена *Sh3gl2* в коре головного мозга мышей линии C57Bl/6 на разных стадиях эмбрионального развития, мы провели нокаут гена с помощью технологии CRISPR/Cas9. При нокауте гена *Sh3gl2* в развивающейся коре происходит задержка нейронов преимущественно в нижних слоях коры.

Ключевые слова: нейрогенез, транскрипционные факторы, *in situ* гибридизация, CRISPR/Cas9.

Понимание того, как развивается мозг во время эмбриогенеза, представляет собой важный вопрос современной нейробиологии [2]. Нейрогенез следует последовательным, организованным клеточным и молекулярным шагам, которые управляются генетическими механизмами для создания органа для выполнения сложных вычислительных задач более высокого уровня, таких как познание, память, эмоции, язык и поведение [4]. Нарушение любого из них может приводить к широкому спектру пороков с различной морфологией коры, генетической или внешней этиологией, родственными синдромами и клиническими проявлениями [1]. Поэтому так важно искать и изучать гены, которые оказывают влияние на кортикогенез. В процессах регуляции развития мозга особое место занимают транскрипционные факторы семейства Neurod — Neurod1, Neurod2 и Neurod6. Они играют ключевую роль в процессах дифференцировки, миграции, выживания и спецификации нейронов [3]. Одной из потенциальных мишеней Neurod является ген *Sh3gl2*. В связи с этим наш интерес был обращен к нему.

Ген *Sh3gl2* кодирует белок эндофилин-A1, который участвует в быстром клатрин-независимом эндофилин-опосредованном эндоцитозе, что является основным путем рециклинга синаптических везикул. Чтобы изучить локализацию экспрессии гена *Sh3gl2* была проведена гибридизация *in situ* в срезах на стадиях e12.5, e15.5 и e18.5. Мы обнаружили сильную экспрессию *Sh3gl2* в популяции нейронов нижних слоев в мозге мышей линии C57Bl/6 на всех стадиях, которая достигает своего пика к e18.5, что было подтверждено иммуногистохимическим анализом.

Для выявления роли гена *Sh3gl2* в процессах нейрогенеза был проведен нокаут гена с использованием технологии CRISPR/Cas9. Генетический конструктор был введен в нейрональные клетки-предшественники эмбрионов мышей линии C57Bl/6 на e13.5 с помощью *in utero* электропорации. На сроке e18.5 было продемонстрировано, что нокаут гена *Sh3gl2* приводит к задержке нейронов преимущественно в нижних слоях коры, что свидетельствует о нарушении миграции.

В заключение стоит отметить, что идентификация генов-мишеней транскрипционных факторов Neurod и регулируемых ими каскадов позволит понять процессы, лежащие в основе нейрогенеза и миграции нейронов, что послужит фундаментом для создания новых методов пренатальной диагностики и терапии.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации
(грант № FSWR-2023-0029).*

Список литературы

1. Guerrini R., Dobyns W.B. . Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes// The Lancet Neurology. — 2014. — Vol. 13 (7). — P. 710–726.
2. Marshall J.J., Mason J. O. Mouse vs man: Organoid models of brain development & disease// Brain Research. — 2019. — Vol. 1724.
3. Tutukova S. , Tarabykin V., Hernandez-Miranda L.R.. The Role of Neurod Genes in Brain Development, Function, and Disease// Frontiers in Molecular Neuroscience. — 2021. — Vol. 14.
4. Zhou Y., Song H., Ming G. Genetics of human brain development// Nature Review Genetics. — 2024. — Vol. 25. — P. 26–45.

STUDYING THE ROLE OF THE *SH3GL2* GENE IN NEUROGENESIS

Abstract. After studying the localization of *Sh3gl2* gene expression in the cerebral cortex of C57Bl/6 mice at different stages of embryonic development, we performed a gene knockout using CRISPR/Cas9 technology. When the *Sh3gl2* gene is knocked out in the developing cortex, neurons are delayed mainly in the lower layers of the cortex.

Key words: neurogenesis, transcription factors, *in situ* hybridization, CRISPR/Cas9.

ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗА 3 КАК РЕГУЛЯТОР ГИБЕЛИ КЛЕТОК СПИНОМОЗГОВЫХ ГАНГЛИЕВ КРЫСЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АКСОТОМИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-83-85

В. А. Дзреян, О. В. Трегубова, А. А. Лебедева

Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

E-mail: dzreyan2016@mail.ru

Аннотация. В работе было исследовано участие, а также механизмы регуляции гистондеацетилазы 3 (HDAC3) в выживаемости и гибели нервных клеток в экспериментальных моделях аксотомии с помощью верстерн блот анализа и иммунофлуоресцентного окрашивания. Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности HDAC3 и сигнального пути Akt/GSK3 β в вызванное аксотомией повреждение ганглиев на ранних сроках после повреждения.

Ключевые слова: гистондеацетилаза 3, аксотомия, нейротравма, эпигенетическая регуляция, спинозные ганглии крысы, апоптоз.

Эпигенетическая регуляция повреждений периферических нервов в последние годы привлекает пристальное внимание исследователей. Но роль эпигенетических процессов в регуляции гибели и выживаемости клеток в первые часы после повреждения нервов пока не изучена [1]. Ряд работ продемонстрировали нейротоксическое действие гистондеацетилазы 3 (HDAC3), однако ее участие в индукции гибели нейронов исследована не до конца. Целью работы явилось исследование уровня содержания и внутриклеточной локализации гистондеацетилазы HDAC3, а также киназ Akt/GSK-3 β , участвующих в её фосфорилировании, в нейронах и клетках глии ганглиев дорсальных корешков (dorsal root ganglia, DRG) после аксотомии седалищного нерва методами иммунофлуоресцентной микроскопии и вестерн блот анализа, а также оценка участия HDAC3 в апоптозе клеток аксотомированных ганглиев методом TUNEL.

Метод двойного иммунофлуоресцентного окрашивания показал, что уровень HDAC3 в цитоплазме поврежденных DRG зна-

чительно сверхэкспрессируется уже через 1 час после аксотомии ($p < 0,01$), но снижается через 4 часа по сравнению с контрольными ганглиями ($p < 0,05$) и уровнем, определяемым через 1 час ($p < 0,01$). Через 24 часа после повреждения разницы не наблюдалось. В ядре аксотомированных DRG уровень HDAC3 увеличивался через 4 часа после перерезки седалищного нерва по сравнению с неповрежденными ганглиями крыс ($p < 0,01$), что происходило на фоне снижения уровня ацетилирования гистонов H3 (AcH3K9) и H4 (AcH4). Это свидетельствует о перераспределении HDAC3 из цитоплазмы в ядро через 4 часа после аксотомии седалищного нерва крысы, что также подтверждается коэффициентом M1 ($p < 0,05$). Отмечалась повышенная колокализация HDAC3 и клеточных ядер, окрашенных TUNEL в течение первых 7 суток после повреждения. Это позволяет предположить, что в аксотомированных спинномозговых ганглиях крысы апоптоз был связан со сверхэкспрессией HDAC3. Согласно полученным данным, аксотомия седалищного нерва крыс вызывала достоверное снижение уровня Akt через 24 часа в цитоплазматической фракции клеток ганглиев (в 2 раза относительно контрольных ганглиев ($p < 0,01$) и в 1,5 раза относительно четырехчасовой группы ($p < 0,01$)). Уровень Akt в ядерной фракции при этом не изменялся и был низким. Уровень GSK-3 β был низким и не изменялся на всем протяжении исследования, как в ядерной, так и цитоплазматической фракциях клеток спинномозговых ганглиев крыс. Однако, по данным иммуноблота уровень phospho-GSK-3 β (Ser9) достоверно увеличивался через 24 часа в цитоплазматической фракции клеток аксотомированных спинномозговых ганглиев крыс ($p < 0,01$).

Таким образом, данные свидетельствуют о вовлеченности HDAC3 и сигнального пути Akt/GSK3бета в вызванное аксотомией повреждение клеток DRG. На основании полученных данных мы можем предположить, что нейротоксический эффект HDAC3 в ответ на аксотомии сенсорных нейронов DRG обусловлен её транслокацией из цитоплазмы в ядро аксотомированных нейронов. Это происходит на фоне снижения уровня ацетилирования гистонов 3 и 4. Это вероятно приводит к нарушению белкового синтеза и как следствие — гибели клеток. Полученные результаты об изменении экспрессии исследуемых белков могут лечь в основу теоретической базы о механизмах нейродегенерации при аксотомии периферических нервов, а исследуемые белки служить потенциальными маркерами повреждения и мишенями при разработке нейропротекторных препаратов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
Министерства науки и высшего образования РФ
в рамках государственного задания в сфере научной деятельности
№ FENW-2023-0018.*

Список литературы

1. Weng Y.L., Joseph J., An R., Song H., & Ming G.L. Epigenetic regulation of axonal regenerative capacity// Epigenomics. — 2016. — No 8(10). — P. 1429–1442. — <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0058>.

HISTONE DEACETYLASE 3 AS A REGULATOR OF CELL DEATH IN RAT SPINAL GANGLIA IN AN EXPERIMENTAL AXOTOMY MODEL

Abstract. The work investigated the participation, as well as the mechanisms of regulation of histone deacetylase 3 (HDAC3) in the survival and death of nerve cells in experimental models of axotomy using western blot analysis and immunofluorescence staining. The data obtained indicate the involvement of HDAC3 and the Akt/GSK3 β signaling pathway in axotomy-induced ganglion damage in the early stages after injury.

Key words: histone deacetylase 3, axotomy, neurotrauma, epigenetic regulation, rat spinal ganglia, apoptosis.

ПРОТОННАЯ МРС ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БЫСТРЫХ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЕЙ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ В ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЕ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-86-88

А. Н. Яковлев^{1,2,3}, М. В. Ублинский^{1,2}, А. В. Манжурцев^{1,2},
П. Е. Меньщиков³, Т. А. Ахадов^{1,3}

¹Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии, г. Москва, Россия

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва, Россия

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия

E-mail: yakovlevalekcej@bk.ru

Аннотация. В настоящем исследовании измерена динамика уровней основных нейромедиаторов (глутамата и ГАМК) в ответ на короткий зрительный стимул при помощи протонной магнитно-резонансной спектроскопии в головном мозге человека. В результате получили увеличение уровней нейромедиаторов в первые секунды после начала стимуляции, что означает количество нейромедиаторов, выпущенных из везикул и взаимодействующих с рецепторами на постсинаптическом нейроне. Таким образом, подобные измерения способны показать уровни торможения или возбуждения, вызванные стимуляцией.

Ключевые слова: глутамат, ГАМК, фМРС, фМРТ.

В этой работе исследуются быстрые изменения уровней основных нейромедиаторов (γ -аминомасляная кислота, ГАМК и глутамат, Glu) в головном мозге в ответ на зрительную стимуляцию. Метод протонной магнитной резонансной спектроскопии (МРС) позволяет неинвазивно измерять уровни метаболитов *in vivo*. Обычно для получения сигнала достаточной интенсивности спектры накапливаются не менее чем 2–3 минуты, и полученные результаты чаще всего интерпретируются в рамках метаболических процессов. Однако временного промежутка в несколько секунд недостаточно для изменений концентраций нейромедиаторов из-за метаболиз-

ма. В этом случае причиной увеличения уровня нейромедиаторов может быть переход нейромедиаторов из везикул в свободное пространство [1; 2]. Если этот переход происходит из-за, например, сенсорной стимуляции, то становится возможным измерить количество нейромедиаторов, выпускаемых из-за стимуляции. Целью настоящей работы является исследование кинетики уровня нейромедиаторов после короткого зрительного стимула.

Все фМРТ-изображения и МР-спектры получены на МР-томографе Philips Achieva dStream 3 Тл. Карта активации в ответ на зрительный стимул получена на компьютере томографа, и в эту область поместили спектроскопический воксель. В исследовании приняли участие 61 здоровый испытуемый. Стимуляция осуществлялась предъявлением мерцающей с частотой 8 Гц шахматной доски в течение трех секунд, повторяющейся через определенный период (между стимулом испытуемому предъявлялся черный экран в течение 13,5/18 с для ГАМК/Glu соответственно). Спектры для измерения ГАМК получены при помощи импульсной последовательности MEGA-PRESS (TR/TE = 1500/68 мс, NSA = 802, 30×40×25 мм), для Glu — PRESS (TR/TE = 2000/35 мс, NSA = 432, 20×30×20 мм). Мы анализировали динамику концентраций метаболитов с временным разрешением 2 секунды, а также BOLD-эффект, измеренный по изменению ширины и высоты резонансных линий NAA и Cr. Мы обнаружили статистически значимое увеличение уровня глутамата на 1 секунде (+12%) и ГАМК на 1,6–3,1 секунде (+4–5%) после начала предъявления стимуляции. Максимальные изменения ширины и высоты резонансных линий Cr и NAA составили 1,2–1,5% и достигли максимума к 6-й секунде после начала стимуляции. Корреляции между уровнями нейромедиаторов и BOLD-ответом не наблюдалось. Предполагается, что изменения уровней нейромедиаторов, вызванные короткой стимуляцией, вероятно, обусловлены их выходом из везикул, а последующее снижение связано с их возвращением в везикулы. Таким образом, в этом исследовании впервые оценены процессы возбуждения и торможения в зрительной коре головного мозга при использовании мерцающей шахматной доски путем прямой оценки выпущенного из везикул количества нейромедиаторов.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке
Российского Научного Фонда (номер соглашения 23-13-00011).*

Список литературы

1. Kauppinen R. A., et al. Compartmentation of cerebral glutamate in situ as detected by $1\text{H}/13\text{C}$ n.m.r. // *Biochemical Journal*. — 1994. — V. 298. — No 1. — P. 121–127.
2. Mullins P. G. Towards a theory of functional magnetic resonance spectroscopy (fMRS): A meta-analysis and discussion of using MRS to measure changes in neurotransmitters in real time // *Scandinavian Journal of Psychology*. — 2018. — V. 59. — No 1. — P. 91–103.

PROTON MRS FOR THE STUDY OF RAPID CHANGES IN NEUROTRANSMITTER LEVELS IN THE VISUAL CORTEX

Abstract. In this study, the dynamics of the levels of the main neurotransmitters (glutamate and GABA) in response to a short visual stimulus was measured using proton magnetic resonance spectroscopy in the human brain. The result was an increase in neurotransmitter levels in the first seconds after the start of stimulation, which means the number of neurotransmitters released from vesicles and interacting with receptors on the postsynaptic neuron. Thus, such measurements are able to show the levels of inhibition or arousal caused by stimulation.

Key words: glutamate, GABA, fMRS, fMRI.

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ МАРКЕРОВ АУТОФАГИИ, НЕЙРОТРОФИНОВ И КАСПАЗЫ-3 В МОЗГЕ ПЛОДА В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-89-91

А. В. Михель^{1,2}, А. В. Горбова¹, В.А. Дудина¹, В. А. Пода¹,
С. К. Бочковский¹, А. Д. Щербицкая^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии
и репродуктологии им. Д. О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова

РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: anastasia.michel39@gmail.com

Аннотация. Исследовано изменение маркеров аутофагии, нейротрофинов, семафорина 3Е, а также каспазы-3 в мозге плода как в норме, так и при высоком уровне гомоцистеина матери на различных сроках беременности методом Вестерн-блот. Данные свидетельствуют о том, что 14-й день беременности в норме характеризуется большей экспрессией изучаемых белков и является наиболее уязвимым периодом для воздействий материнской гипергомоцистеинемии.

Ключевые слова: пренатальная гипергомоцистеинемия, нейротрофины, аутофагия, каспаза-3, мозг плода

Аутофагия как процесс, направленный на поддержание клеточного и энергетического гомеостаза, важен в период эмбриогенеза, когда происходит активное формирование архитектоники коры головного мозга [4]. В свою очередь, для самых ранних миграций клеток, образующих нервную систему, важна передача сигналов семафорин (SEMA), в частности SEMA3Е, регулирующего развитие нисходящих аксональных путей [3]. Также важную роль в поддержании процессов роста и дифференциации клеток в период формирования ЦНС плода играют нейротрофические факторы (BDNF, NGF) [1]. При этом нормальное развитие мозга плода сопровождается апоптозом, ключевым медиатором которого явля-

ется каспаза-3 [2]. Баланс описываемых молекулярных процессов лежит в основе гармоничного развития мозга плода. Любые нарушения в этапах аутофагии, апоптоза или миграции клеток способствуют развитию когнитивных дисфункций в постнатальный период. Однако вопрос об изменении маркеров этих процессов в мозге плода с течением нормального эмбриогенеза не раскрыт, тем более при патологическом воздействии токсических агентов, одним из которых является гомоцистеин (ГЦ). В связи с этим, целью данной работы является комплексная оценка содержания маркеров аутофагии (ATG-13, Beclin-1, LC3B, Lamp-2), уровня NGF, BDNF, SEMA3E, а также каспазы-3 в мозге плода разных сроков эмбриогенеза (14-й и 20-й день развития; E14, E20) как в норме, так и при высоком уровне ГЦ в организме матери (Гипергомоцистеинемия, ГГЦ).

Самок крыс линии Wistar разделили на две группы: контрольной группе с 4-го дня беременности (E4) и до родоразрешения перорально вводили воду, подопытной — раствор метионина. В мозге плода E14 и E20 оценка содержания NGF, BDNF, SEMA3E, Atg-13, Beclin-1, LC3B, Lamp-2, а также каспазы-3 проводилась методом Вестерн-блот.

В норме с увеличением срока беременности в мозге плода наблюдалось достоверное снижение уровня SEMA3E, повышение pro-BDNF, снижение NGF, а также повышение неактивного предшественника (p35) каспазы-3, что сопровождалось снижением уровней ATG-13, Beclin-1 и показана тенденция к снижению LC3B. При материнской ГГЦ наблюдалось же повышение pro-BDNF, снижение его зрелой формы, а также SEMA3E в ткани головного мозга плода на E14. На этом же сроке развития при воздействии высоких уровней материнского ГЦ наблюдалось снижение Beclin-1 и повышение Lamp-2. Активная форма каспазы-3 (p17) обнаруживалась только в мозге на E20. При этом не было выявлено статистически значимых отличий в содержании фрагментов каспазы-3 при сравнении обеих групп на E14 и E20. Единственное отличие в исследуемых маркерах на E20 состояло в повышении pro-BDNF в группе с пренатальной ГГЦ.

Таким образом, изменения, наблюдаемые в контрольной группе, характеризуют срок E14 как наиболее активный период формирования структур головного мозга плода. В свою очередь, именно на этом сроке материнская ГГЦ способствует изменению большинства маркеров, ответственных за процесс аутофагии и нейрогенез,

что может свидетельствовать о весьма раннем негативном влиянии ГЦ на развивающийся мозг.

Поддержано грантом РНФ №22-15-00393.

Список литературы

1. Chauvet S. Gating of Sema3E/PlexinD1 signaling by neuropilin-1 during brain development / S. Chauvet, S. Cohen, Y. Yoshida, L. Fekrane, J. Livet // *Neuron*. — 2007. — No 56 (5). — P. 807–822.
2. D'Amelio M. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis / M. D'Amelio, M. Sheng, F. Cecconi // *Trends Neurosci*. — 2012. — No 35 (11). — P. 700–709.
3. Sahay A. Role of neurotrophins in pregnancy and offspring brain development / A. Sahay, A. Kale, S. Joshi // *Neuropeptides*. — 2020. — No 83. — P. 102075.
4. Valencia M. Neuronal Autophagy: Characteristic Features and Roles in Neuronal Pathophysiology / M. Valencia, S. R. Kim, Y. Jang, S. H. Lee // *Biomol Ther (Seoul)*. — 2021. — No 29 (6). — P. 605–614.

ASSESSMENT OF THE LEVELS OF AUTOPHAGY MARKERS, NEUROTROPHINS AND CASPASE-3 IN THE FETAL BRAIN IN NORMAL AND EXPERIMENTAL PRENATAL HYPERHOMOCYSTEINEMIA

Abstract. Changes in markers of autophagy, neurotrophins, semaphorin 3E, and caspase-3 in the fetal brain were studied both in normal and with high levels of maternal homocysteine at various stages of pregnancy using the western blot method. The data indicate that the 14th day of pregnancy is normally characterized by a greater expression of the studied proteins and is the most vulnerable period to the effects of maternal hyperhomocysteinemia.

Key words: prenatal hyperhomocysteinemia, neurotrophins, autophagy, caspase-3, fetal brain.

ВЛИЯНИЕ ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НА ТАКТИЛЬНУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СОСТОЯНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ КРЫСЫ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-92-94

Н. О. Фокеева, В. Д. Илюшичев, А. А. Кочнева,
Е. В. Герасимова

Научно-технологический университет «Сириус», федеральная территория
Сириус, Россия

E-mail: nataf1306@gmail.com

Аннотация. В работе было продемонстрировано влияние донора оксида азота на изменение тактильной чувствительности и дегрануляцию тучных клеток в мозговой оболочке крыс в модели хронической мигрени. Результаты показали, что при введении нитроглицерина происходит изменение порогов механорецепции, а также повышение активности тучных клеток.

Ключевые слова: мигрень, нитроглицерин, механорецепция, тучные клетки

Оксид азота (NO) играет ключевую роль в патогенезе мигрени. Нитроглицерин (НТГ) — донор NO, является фактором, вызывающим головную боль, а инфузия НТГ участвует в индукции приступа мигрени [2]. Тучные клетки, локализующиеся в *dura mater*, могут являться источником медиаторов воспаления во время мигренозного приступа. В процессе своей активации они высвобождают ряд различных медиаторов воспаления, в том числе гистамин [1]. Гистамин, выделяющийся при дегрануляции тучных клеток, связан с ноцицептивной системой и обработкой сенсорных стимулов. Целью данной работы являлось исследование хронического влияния нитроглицерина на пороги тактильной чувствительности и дегрануляцию тучных клеток у крыс.

В исследовании была использована модель хронической мигрени на самцах крыс линии Wistar. Животным внутрибрюшинно вводился НТГ в концентрации 10 мг/кг на 1, 3, 5, 7, 9 дни. Ко-

личество животных в контрольной группе составило 7, в экспериментальной группе — 5. Пороги механорецепции у животных измерялись до введения НТГ, а также на 3, 5 и 9 дни в течение 3 часов после инъекции с помощью прибора фон Фрея (Ugo Basin, Италия). Через день после последней инъекции производилось выделение мозговых оболочек и их окрашивание 0.1% толуидиновым синим. Степень дегрануляции тучных клеток оценивали визуально. Расчет индекса дегрануляции проводился по следующей формуле:

$$\text{Индекс Дегрануляции} = \frac{A \times 0 + B \times 1 + B \times 2 + G \times 3}{n},$$

где A – G — степень дегранулированности клеток: A — неактивные тучные клетки, B — клетки со слабой степенью дегрануляции, B — клетки с умеренной степенью дегрануляции, G — сильно дегранулирующие клетки; n — общее количество клеток.

Количество клеток для каждого препарата составило не менее 100 клеток. Механическую чувствительность измеряли до введения НТГ ($32,2 \pm 8,9$ г/мм²) и сравнивали с результатами, полученными во время введения НТГ: 3 часа на третий день ($28,1 \pm 8,5$; $26,5 \pm 9,3$; $29,6 \pm 11$ г/мм²), 3 часа на пятый день ($26,8 \pm 9,2$; $24,5 \pm 8,7$; $23,2 \pm 7$ г/мм²), 2 часа на девятый день ($29,1 \pm 9,9$; $26,6 \pm 9,2$ г/мм²).

Статистически значимые различия были обнаружены между контрольными показателями и вторым часом третьего дня ($p \leq 0,05$), вторым и третьим часами пятого дня ($p < 0,001$) и вторым часом девятого дня ($p \leq 0,05$). Общий индекс дегрануляции тучных клеток животных контрольной группы составил $0,31 \pm 0,35$ ($p < 0,05$, $n = 7$). Индекс дегрануляции тучных клеток после введения нитроглицерина был достоверно выше и составил $1,06 \pm 0,04$ ($p < 0,05$, $n = 5$).

Было показано, что при введении нитроглицерина, донора NO, происходит изменение порогов механорецепции, а также повышение активности тучных клеток. Рост дегрануляции тучных клеток приводит к повышенной выработке медиаторов воспаления, которые играют важную роль в нейровоспалении, а также могут опосредованно влиять на сенсорные процессы, вызывая гиперсенситизацию.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-15-00328.

Список литературы

1. Levy D. Migraine pain, meningeal inflammation, and mast cells// Current pain and headache reports. — 2009. — V. 13. — P. 237–240.
2. Neeb L., Reuter U. Nitric oxide in migraine//CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders). — 2007. — V. 6. — No 4. — P. 258–264.

THE EFFECT OF A NITRIC OXIDE DONOR ON TACTILE SENSITIVITY AND THE CONDITION OF MAST CELLS OF THE RAT *DURA MATER*

Abstract. The work demonstrated the effect of a nitric oxide donor on changes in tactile sensitivity and degranulation of mast cells in the rat meninges in a model of chronic migraine. The results showed that when nitroglycerin is administered, there is a change in the thresholds of mechanoreception, as well as an increase in the activity of mast cells.

Key words: migraine, nitroglycerin, mechanoreception, mast cells.

ЗЕБРАДАНИО КАК МОДЕЛЬ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОГО РАССТРОЙСТВА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-95-97

С. В. Амикишиев¹, М. М. Котова¹, Н. О. Прохоренко¹,
А. В. Калуев¹

Университет Сириус, Федеральная территория Сириус, Россия
E-mail: svamikishiev@gmail.com

Аннотация. Данное исследование демонстрирует временное изменение паттернов поведения с тревожного на депрессивно-подобное в модели хронического непредсказуемого стресса на зебраданио (*Danio rerio*). В дальнейшем наблюдения могут быть транслированы с модели зебраданио на человека, в том числе для потенциального поиска фармакологических агентов для терапии последствий хронического стресса.

Ключевые слова: хронический непредсказуемый стресс, тревожное поведение, депрессивно-подобное поведение, зебраданио.

Введение. Хронический стресс является ведущей причиной возникновения тревожно-депрессивного расстройства (ТДС). На настоящий момент ТДС страдает около 300 миллионов человек во всем мире [1]. Применение в биомедицинских исследованиях перспективных модельных объектов позволяет ускорить разработку новых лекарственных форм для эффективной борьбы с ТДС и другими коморбидными заболеваниями нервно-психического спектра. Для этих целей используется зебраданио (*Danio rerio*), которая зарекомендовала себя в трансляционных исследованиях, в том числе и в модели хронического стресса.

Цель исследования. Оценить переход тревожного поведения в депрессивно-подобное на зебраданио после воздействия 1-, 5- и 12-недельного хронического непредсказуемого стресса.

Материалы и методы. Были использованы 160 особей короткоплавниковых зебр (дико типа), разделенных на две равные группы (опыт + контроль). Экспериментальная группа подвергалась хроническому непредсказуемому стрессу (ХНС) в течение 3 различных периодов времени (1, 5 и 12 недель): 32 особи — 1-недельный стресс + контроль; 48 особей — 5-недельный стресс + контроль; 80 особей — 12-недельный стресс + контроль. В каждой временной точке проводился анализ поведения рыб и оценивался уровень кортизола в теле рыбы. Поведенческие тесты включали в себя тест нового аквариума (NTT) [2] и тест иммобилизации за хвост (ZTI) [3]. Уровень кортизола был определен с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) [4].

Результаты и обсуждение. Мы не выявили различий между экспериментальной и контрольной группами в тесте NTT после 1 недели. На 5 неделе было показано, что экспериментальная группа по сравнению с контрольной проводила меньше времени в верхней части аквариума и характеризовалась меньшей двигательной активностью и увеличенным латентным периодом выхода в верхнюю зону аквариума. Аналогичные наблюдения были сделаны со стрессированной группой после 12 недель. Данные указывают на повышенный уровень тревожности у зебр на 5 и 12 неделе, однако статистически значимой разницы между ними не наблюдалось. Мы не выявили статистически значимых различий на 1-й и 5-й неделях после теста на отчаяние (ZTI). На 12 неделе экспериментальные зебры проявляли меньшую активность по сравнению с контрольной группой, что указывает на поведение отчаяния. Уровень кортизола между экспериментальной и контрольной группами после 1 недели не различался. Кортизол увеличивался на 5 неделе хронического стресса и снижался на 12 неделе по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об истощении кортикотропной оси из-за длительности стрессирования. Таким образом, тесты NTT и ZTI показали, что рыбы на 5 неделе хронического непредсказуемого стресса демонстрировали тревожное поведение, а рыбы на 12 неделе — депрессивно-подобное поведение. При этом уровень кортизола повышается при тревожном поведении и снижается при депрессивно-подобном. Это может иллюстрировать переход от тревожного поведения к депрессивно-подобному в ходе хронического непредсказуемого стресса у зебр, что не было показано ранее.

Список литературы

1. Chodavadia P., Teo I., Poremski D., Fung D. S. S., & Finkelstein E. A. Prevalence and economic burden of depression and anxiety symptoms among Singaporean adults: results from a 2022 web panel// BMC psychiatry. — 2023. — No 23 (1). — P. 104.
2. Fontana B.D., Alnassar N., & Parker M. O. The zebrafish (*Danio rerio*) anxiety test battery: comparison of behavioral responses in the novel tank diving and light-dark tasks following exposure to anxiogenic and anxiolytic compounds// Psychopharmacology. — 2022. — No 239 (1). — P. 287–296.
3. Demin K. A., Lakstygal A. M., Chernysh M. V., Krotova N. A., Taranov A. S., Ilyin N. P., Seredinskaya M. V., Tagawa N., Savva A. K., Mor M. S., Vasyutina M. L., Efimova E. V., Kolesnikova T. O., Gainetdinov R. R., Strekalova T., Amstislavskaya T. G., de Abreu M. S., & Kalueff A. V. The zebrafish tail immobilization (ZTI) test as a new tool to assess stress-related behavior and a potential screen for drugs affecting despair-like states// Journal of neuroscience methods. — 2020. — No 337. — P. 108637.
4. Canavello, P.R., et al. Chapter 11 Measuring endocrine (cortisol) responses of zebrafish to stress// Zebrafish Neurobehav. Protocols. — 2011. — No 51. — P. 135–142

ZEBRA DANIO AS A MODEL OF MIXED ANXIETY-DEPRESSIVE DISORDER AFTER EXPOSURE TO CHRONIC UNPREDICTABLE STRESS

Abstract. This study demonstrates a temporary change in behavior patterns from anxious to depressive-like in the zebra danio model of chronic unpredictable stress. In the future, observations can be translated from the zebra danio model to humans, including for the potential search for pharmacological agents for the treatment of the effects of chronic stress.

Key words: chronic unpredictable stress, anxious behavior, depressive-like behavior, zebra danio.

**СЕКЦИЯ
«КОГНИТИВНАЯ
ПСИХОФИЗИОЛОГИЯ»**

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОВОРОТА ГОЛОВЫ НА РАБОТУ СИСТЕМЫ ЗЕРКАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-99-101

А. А. Рагимова^{1,3}, М. И. Саламатин¹, К. Ньето-Доваль¹,
А. А. Батов^{1,2}, О. И. Шевцов¹, А. О. Вязмина¹, М. Феурра¹

¹Национальный исследовательский университет

«Высшая школа экономики», Россия, Москва

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России

(Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

³Научный центр неврологии, Россия, Москва

E-mail: mihail.salamatin@gmail.com

Аннотация. Исследование направлено на изучение влияние напряжения мышц шеи и положения головы на активацию системы зеркальных нейронов при наблюдении за движениями рук. В рамках эксперимента участники просматривали видеоклипы движений мизинца и указательного пальца, в то время как проводилась транскраниальная магнитная стимуляция. Результаты подчеркивают значительное взаимодействие между движением пальцев на видео и активацией целевых мышц или ингибированием нецелевых мышц, а также на потенциальное влияние положения головы на возбудимость моторной коры.

Ключевые слова: зеркальные нейроны; наблюдение за действиями; транскраниальная магнитная стимуляция; положение головы; возбудимость моторной коры; первичная моторная кора; реабилитация.

Актуальность данного исследования обусловлена значительным вкладом системы зеркальных нейронов (СЗН) в понимание социальных взаимодействий и эмпатии, а также в реабилитацию после моторных нарушений [4; 6]. СЗН играет ключевую роль в имитации действий и развитии языка, что подчеркивается в исследованиях [2; 4]. Возбуждение кортико-спинального тракта зависит от положения головы и напряжения мышц шеи, моторные вызванные потенциалы (МВП) при повороте головы, собранные на здоровой выборке, были близки к МВП больных цервикальной дистонией [5]. Функционирование мышц шеи и положение тела как факторы, влияющие на работу СЗН, мало изучены. В данном уникальном исследовании изучаются изменения в работе СЗН, выра-

жаемой в активации мышц во время наблюдения за действиями в зависимости от напряжения мышц шеи и поворота головы.

Участники просматривали видеоклипы, изображающие движения мизинца и указательного пальца, а также статичные положения руки при прямом и повёрнутом положении головы, в то время как транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС) применялась через различные временные интервалы [1].

Многомерные пост-хок тесты выявили значительные взаимодействия между типом движения и целевой мышцей, подтверждая сильную активацию первой дорсальной межкостной мышцы (FDI) во время движения указательного пальца в отличие от её тормозного эффекта при наблюдении за движением мизинца ($p = 0,01$) и при статическом положении руки ($p \leq 0,001$). Кроме того, активность мышцы, отводящей мизинец (ADM), значительно увеличивается при наблюдении за статичной рукой и движением мизинца, но снижается при движении указательного пальца ($p = 0,026$), что свидетельствует о том, что СЗН участвует не только в активации целевых мышц, но и в ингибировании мышц, не задействованных в наблюдаемом движении. Интересно, что значимых различий в активации СЗН при различных положениях шеи и поворотах головы не обнаружено, однако наблюдается тенденция к увеличению МВП при повороте головы ($p = 0,24$), что предполагает потенциальное влияние положения головы и напряжения шеи на возбудимость моторной коры.

Эти результаты проливают свет на сложные механизмы, лежащие в основе наблюдения за действиями, и имеют значение для моторного познания и реабилитации [3]. Будущие исследования необходимы для дальнейшего понимания факторов, влияющих на активацию зеркальных нейронов, и того, как они формируют двигательные реакции, тем самым улучшая методы реабилитации.

Исследование было проведено с использованием Уникальной научной установки НИУ ВШЭ «Автоматизированная система неинвазивной стимуляции мозга с возможностью синхронной регистрации биотоков мозга и отслеживания глазодвижения».

Список литературы

1. Ньето-Доваль К., Рагимова А. А., Феурра М. Влияние зрительного предъявления движений пальцев руки на моторный ответ, вызванный транскраниальной магнитной стимуляцией. Эффект,

- связанный с возможной реакцией системы зеркальных нейронов// Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. — 2023. — Т. 73. — № 3. — С. 334–347.
2. Bianco G., Feurra M., Fadiga L., Rossi A. & Rossi S. Bi-hemispheric effects on corticospinal excitability induced by repeated sessions of imagery versus observation of actions// Restorative Neurology and Neuroscience. — 2012. — No 30(6). — P. 481–489.
 3. Feurra M., Blagovechtchenski E., Nikulin V.V., Nazarova M., Lebedeva A., Pozdeeva D., Yurevich M. & Rossi S. State-Dependent Effects of Transcranial Oscillatory Currents on the Motor System during Action Observation// Scientific Reports. — 2019. — No 9(1).
 4. Iacoboni M. Imitation, empathy, and mirror neurons// Annual Review of Psychology. — 2009. — No 60(1). — P. 653–670.
 5. Popa T., Hubsch C., James P., Richard A., Russo M., Pradeep S., Krishan S., Roze E., Meunier S., Kishore A. Abnormal cerebellar processing of the neck proprioceptive information drives dysfunctions in cervical dystonia// Sci Rep. — 2018 Feb. — V. 2. — No 8(1). — P. 2263.
 6. Rossini P.M., Barker A.T., Berardelli A., Caramia M.D., Caruso, G., Cracco R.Q., Dimitrijević M.R., Hallett M., Katayama Y. & Lücking C.H. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee// Electroencephalography and clinical neurophysiology, — 1994. — No 91(2). — P 79–92.

STUDYING THE EFFECT OF HEAD ROTATION ON THE FUNCTIONING OF THE MIRROR NEURON SYSTEM

Abstract. The study investigates the effect of neck muscle tension and head position on the activation of the mirror neuron system when observing hand movements. As part of the experiment, participants watched video clips of the movements of the little finger and index finger, while transcranial magnetic stimulation was performed. The results highlight the significant interaction between finger movement in the video and activation of target muscles or inhibition of non-target muscles, as well as the potential effect of head position on motor cortex excitability.

Key words: mirror neurons; observation of actions; transcranial magnetic stimulation; head position; excitability of the motor cortex; primary motor cortex; rehabilitation.

ХАРАКТЕРИСТИКИ АКТИВНОСТИ ЭЭГ В ПРОЦЕССЕ ИМПЛИЦИТНОГО ОБУЧЕНИЯ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-102-104

**В.В. Петров¹, С.Р. Абрамова², В.А. Матушкина³,
С.П. Кожевников⁴**

¹Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия

²Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия

³Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского,
Саратов, Россия

⁴Удмуртский государственный университет, Ижевск, Россия

E-mail: petrov24sl@gmail.com

Аннотация. Исследовали изменение биоэлектрической активности мозга при имплицитном научении. В ходе исследования были показаны увеличение амплитуды в α - и θ -частотных диапазонах в лобно-височных областях коры, увеличение амплитуды в β -частотном диапазоне в теменно-затылочных и фронтальных областях коры. Имплицитное научение базируется на взаимодействии двух нейронных сетей мозга: лобно-височные отделы коры и осцилляторные системы $\alpha 1$ - и θ - частотных диапазонов отвечают за обработку информации и выявление последовательностей, теменно-затылочные отделы и осцилляторные системы $\beta 1$ - и $\alpha 3$ -ритмов — за ожидание и подготовку к ответной реакции.

Ключевые слова: имплицитное обучение, ЭЭГ, память.

Неосознаваемое имплицитное обучение и обработка информации происходит быстрее и эффективнее, чем с использованием сознания. В данном исследовании основной целью было изучение нейрофизиологических основ имплицитного обучения с использованием искусственной грамматики по методике А. Ребера [3]. Эксперимент включал обучающую и контрольную серии стимулов по 20 буквенных последовательностей в каждой. Оценка механизмов различных областей мозга при имплицитном научении проводилась в сравнении со статистическим (эксплицитным) научением, для которого использовались буквенные последовательности с очевидными закономерностями. Данные обрабатывались с использованием ЭЭГ и анализа амплитуд в стандартных частотных

диапазонах. Участие в исследовании приняли 42 человека. Для статистической обработки данных применялся дисперсионный анализ ANOVA в программе SPSS 23.

Результаты исследования показывают, что процесс имплицитного обучения включает взаимодействие двух нейронных сетей мозга. На начальном этапе обучения для обработки информации и выявления релевантных последовательностей активируются лобно-височные отделы коры и осцилляторные системы α 1- и θ -частотных диапазонов. В частности, на основе повышенной синхронности α -ритма могут выстраиваться процессы взаимодействия проекционных, ассоциативных и подкорковых образований на макроуровне, что способствует более эффективной обработке поступающей информации [1]. В нашем исследовании это проявляется в активации процессов восприятия и анализа стимулов для выявления правильных последовательностей. Увеличение амплитуды α -ритма также может быть связано с обучением методом проб и ошибок [2]. Это согласуется с результатами нашего исследования, в котором среднее количество ошибок составляет 40%. На конечном этапе обучения и при распознавании наблюдается рост амплитуды в теменно-затылочных отделах и в системах β 1- и α 3-ритмов, что связано с активацией зрительного внимания. Рост амплитуды β -ритма замечен также в период ожидания стимула, при выполнении задач, требующих повышенного внимания, связан с улучшением чувствительности зрительных структур к визуальным стимулам. Активация теменно-затылочных областей в нашем исследовании связана с процессами ожидания правильной последовательности. Другие работы также подтверждают роль этих областей в перцептивном предвосхищении и возможности формирования прогнозов для процесса обучения [4]. Однако недостаточное вовлечение корковых осцилляторов ЭЭГ активности приводит к низкой точности, инвариантности и эффекту неосознанности результатов обучения.

Список литературы

1. Bianco V. Updating implicit contextual priors with explicit learning for the prediction of social and physical events// *Brain Cogn.* — 2022. — Vol. 160. — P. 105876.
2. Karakaş S. A review of theta oscillation and its functional correlates// *J. Psychol.* — 2020. — Vol. 157. — P. 82–99.

3. Reber A. S. Implicit learning of artificial grammars// Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior. — 1967. — Vol. 6. — P. 855–863.
4. Turk-Browne N., et al. Implicit perceptual anticipation triggered by statistical learning// J. Neurosci. — 2010. — Vol. 30. — P. 11177–11187.

CHARACTERISTICS OF EEG ACTIVITY IN THE PROCESS OF IMPLICIT LEARNING

Abstract. The changes in the bioelectric activity of the brain during implicit learning were studied. The study showed an increase in amplitude in the α - and θ -frequency ranges in the frontal-temporal regions of the cortex, an increase in amplitude in the β -frequency range in the parietal-occipital and frontal regions of the cortex. Implicit learning is based on the interaction of two neural networks of the brain: the frontal-temporal cortex and the oscillatory systems of the α 1 and θ frequency ranges are responsible for processing information and identifying sequences, the parietal-occipital departments and the oscillatory systems of the β 1 and α 3 rhythms are responsible for waiting and preparing for a response.

Key words: implicit learning, EEG, memory.

МОДЕЛЬ ЗАТУХАНИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ РЕПРЕЗЕНТАЦИИ АУДИАЛЬНОГО СТИМУЛА У ЧЕЛОВЕКА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-105-107

П. А. Сафронов^{1,2}, И. А. Лазаренко¹, Д. Г. Митюрева¹,
О. В. Сысоева¹

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

²Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

E-mail: gogagagara99@gmail.com

Аннотация. Проведение опыта по затуханию нейрональной репрезентации аудиальных стимулов на группе нормофизиологических испытуемых в четырех экспериментальных парадигмах позволило построить модель аудиальной адаптации, достоверно отражающую силовые и временные характеристики нейрофизиологических процессов, протекающих в коре головного мозга человека.

Ключевые слова: аудиальная адаптация, модель аудиальной адаптации, затухание репрезентации, вызванный потенциал.

Нейрональная адаптивность является крайне важным феноменом, объясняющим природу многих нормальных и патофизиологических процессов в организме [2]. Вместе с этим на данный момент не существует единой признанной модели, описывающей ее силовые и временные характеристики [3].

В эксперименте по аудиальной адаптации принял участие 21 здоровый испытуемый (11 мужчин и 10 женщин в возрасте от 19 до 35 лет). Испытуемые слышали бинауральные звуки (чистый тон 1000 Гц длительностью 0,1 с и громкостью 65 дБ) через наушники. Эти звуки предъявлялись в четырех экспериментальных блоках с четырьмя типами межстимульных интервалов (МСИ): 0,45; 0,9; 1,8 и 3,6 с. Параллельно велась запись ЭЭГ по 64 отведениям. Анализ ЭЭГ проводился с использованием языка программирования Python и пакета MNE.

Пики амплитуд полученных элементов ВП определялись как максимальное отрицательное значение в интервале 0,08–0,12 с для N100 и как максимальное положительное значение в интервале 0,12–0,22 с для P180. Используя полученные значения элементов ВП при четырех различных МСИ по модулю, для каждого испытуемого была построена модель экспоненциального затухания, представляющая собой график функции $f(t) = \alpha + \beta e^{-t/\tau}$, где α — это значение асимптоты, β — это величина адаптации, τ — это постоянная времени адаптации, t — это значение МСИ [1].

Было выбрано значение для условия с максимально выраженным ответом (МСИ 3,6 с) и проанализирована связь амплитуды ответа и параметров модели затухания. Было установлено, что величина затухания β имеет корреляцию со значениями амплитуд исследуемых компонентов (для N100 $R = 0,717$, $p < 0,001$, для P180 $R = -0,561$, $p = 0,008$, тест корреляции Спирмена). При этом время затухания τ не коррелировало с амплитудами ответов (для N100 $R = -0,198$, $p = 0,403$, для P180 $R = -0,282$, $p = 0,229$, тест ранговой корреляции Спирмена), что подтверждает независимость этого параметра от характеристик отдельного ВП.

Таким образом, в работе продемонстрированы различные параметры затухания репрезентации аудиального стимула, отражающиеся в компонентах N100 и P180 — время затухания больше для более позднего компонента, что подтверждает идею об увеличении времени хранения следа памяти на более поздних этапах анализа информации. В целом полученные данные согласуются с параметрами слуховой рабочей памяти и могут быть использованы в будущем для оценки процесса адаптации при различных нейрофизиологических процессах.

Работа проведена при поддержке гранта РФФ 22-18-00676.

Список литературы

1. Jaffe-Dax S., Frenkel O., Ahissar M. Dyslexics' faster decay of implicit memory for sounds and words is manifested in their shorter neural adaptation // *Elife*. — 2017. — No 6. e20557.
2. Pérez-González D. & Malmierca M.S. Adaptation in the auditory system: an overview // *Frontiers in integrative neuroscience*. — 2014. — No 8. — P. 19.
3. Raviv O., Lieder I., Loewenstein Y., Ahissar M. Contradictory behavioral biases result from the influence of past stimuli on perception // *PLoS Comput Biol*. — 2014. — No 10(12). — e1003948. Published.

A MODEL OF ATTENUATION OF THE NEURONAL REPRESENTATION OF AN AUDITORY STIMULUS IN HUMANS

Abstract. Conducting an experiment on attenuation of the neuronal representation of auditory stimuli on a group of neurotypical subjects in four experimental paradigms allowed us to build a model of auditory adaptation that reliably reflects the power and time characteristics of neurophysiological processes occurring in the human cerebral cortex.

Key words: auditory adaptation, auditory adaptation model, attenuation of representation, evoked potential.

ИЗМЕНЕНИЯ КОРТИКАЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА P300 ПРИ ОДНОСТОРОННЕЙ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ АГНОЗИИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ИНСУЛЬТА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-108-110

Д. Г. Мухаммад¹, Н. В. Сыров¹, А. С. Медведева¹,
А. Я. Алиева², Л. В. Яковлев¹, Д. А. Петрова¹

¹Центр нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана
Сколковского института науки и технологий, Москва, Россия

²ФГБУ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России,
Москва, Россия

E-mail: dahagarba@gmail.com

Аннотация. Recently, P300 was proposed as a marker of attention deficit, especially in patients with hemineglect. In this experiment, patients with neglect-like symptoms were recruited to perform a stimulus-response task, and RIDE decomposition was used to assess changes in P300 in these patients. We detected frontal S-P300 when moving the paretic hand, which is absent when moving the unaffected hand, probably reflecting compensatory mechanism related to early stimulus processing.

Ключевые слова: Residue Iteration Decomposition, Stroke, Neglect, P300.

Одним из проявлений нарушения когнитивных функций после инсульта является неглект или пространственная агнозия — потеря ориентации и способности замечать объекты в поле зрения, противоположном поврежденному полушарию. В исследовании Saevansson et al. [1] авторами использовался когнитивный потенциал P300 как мера распределения внимания для изучения связи между дефицитом внимания и неглектом. Авторы регистрировали потенциал P300 в парадигме с редкими стимулами у пациентов с пространственным игнорированием и выявили, что целевые стимулы в противоположном повреждению поле зрения вызывали более слабые ответы по сравнению со стимулами в интактном поле. Ye et al. [2] исследовали изменения поведения и вызванных потенциалов ЭЭГ у пациентов

после правополушарного инсульта, выделив группы с пространственным игнорированием и без. Примечательно, что у пациентов с неглектом также было обнаружено значительное снижение амплитуды P300. Эти результаты могут свидетельствовать о том, что изучение вариаций P300 и других кортикальных потенциалов поможет понять механизмы, лежащие в основе пространственной агнозии, развивающейся после инсульта.

В настоящем исследовании мы проводили регистрацию ЭЭГ-вызванных потенциалов у 20 пациентов с гемиплегией после инсульта. В эксперименте пациентам в ответ на зрительный стимул необходимо было совершить движение здоровой конечностью или попытаться выполнить движения паретичной. Целевым движением было разгибание запястья. Пациентам предъявлялось два зрительных стимула — первый соответствовал движениям правой рукой, предъявление второго требовало совершить движение левой рукой. Однако в ходе одной сессии необходимо было выполнять только один тип движения (например, «целевым» стимулом была лампочка справа и в ответ на ее подсветку необходимо было совершить разгибание запястья правой руки), соответственно, предъявление второго стимула («нецелевого») необходимо было игнорировать. Мы провели декомпозицию вызванных потенциалов методом Residue Iteration Decomposition (RIDE), который разделяет вызванные потенциалы на кластеры: S (связанный с анализом стимула), R (связанный с реакцией) и C (промежуточный кластер) [3].

В S-кластере мы наблюдали появление пика, подобного потенциалу P300, у пациентов с симптомами неглекта, который отсутствовал у пациентов без симптомов игнорирования, причем он был более выражен в непораженном полушарии. Кроме того, у пациентов с неглектом при движениях пораженной конечностью пик P300, обнаруженный в C-кластере, имел меньшую амплитуду, чем при движениях здоровой рукой. Эта асимметрия P300 между пораженным и непораженным полушариями может указывать на изменения когнитивных процессов у пациентов с неглектом. Эти результаты могут быть использованы для оценки динамики восстановления в ходе реабилитации и тренировки внимания. Более того, у пациентов с агнозией наблюдались более высокие амплитуды пиков как в S-кластере, так и в C-кластерах по сравнению с пациентами с отсутствием признаков неглекта. Это наблюдение может отражать компенсаторные механизмы у пациентов с пространственной агнозией.

Список литературы

1. Saevarsson S., Kristjánsson A., Bach M., Heinrich S.P. P300 in neglect// Clin Neurophysiol. — 2012 Mar. — No 123 (3). — P. 496–506.
2. Ye L.L., Cao L., Xie H.X., Shan G.X., Zhang Y.M., Song W.Q. Visual-spatial neglect after right-hemisphere stroke: behavioral and electrophysiological evidence// Chin Med J. (Engl). — 2019 May. — V. 5. — No 132 (9). — P. 1063–1070. — doi: 10.1097/CM9.0000000000000218.
3. Ouyang G., Herzmann G., Zhou C. & Sommer W. Residue iteration decomposition (RIDE): A new method to separate ERP components on the basis of latency variability in single trials// Psychophysiology. — 2011. — No 48 (12). — P. 1631–1647.

CHANGES IN THE CORTICAL POTENTIAL OF P300 IN UNILATERAL SPATIAL AGNOSIA IN PATIENTS AFTER STROKE

Abstract. Recently, P300 was proposed as a marker of attention deficit, especially in patients with hemineglect. In this experiment, patients with neglect-like symptoms were recruited to perform a stimulus-response task, and RIDE decomposition was used to assess changes in P300 in these patients. We detected frontal S-P300 when moving the paretic hand, which is absent when moving the unaffected hand, probably reflecting compensatory mechanism related to early stimulus processing.

Key words: Residue Iteration Decomposition, Stroke, Neglect, P300.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ОБЪЕДИНЕНИЯ МУЛЬТИМОДАЛЬНЫХ ДАННЫХ НЕЙРОВИЗУАЛИЗАЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ШИЗОФРЕНИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-111-113

Е. С. Антипушина^{1,2}, М. О. Бойко^{1,2}, Д. А. Сенько³,
Ф. Е. Хайтович³, М. Г. Шараев^{1,2}

¹Центр прикладного искусственного интеллекта, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

²Лаборатория искусственного интеллекта для биомедицины, VIMAI-lab, Университетом Шарджи, Объединенные Арабские Эмираты

³Центр Нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана, Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

E-mail: Ekaterina.Antipushina@skoltech.ru

Аннотация. В данном исследовании рассмотрены возможности применения мультимодальных методов машинного обучения для улучшения качества диагностики шизофрении. Набор данных включал в себя матрицы связности функциональной магнитно-резонансной томографии датасета COBRE 54 пациентов с шизофренией и 69 здоровых испытуемых, МР-морфометрию и информацию об уровнях липидной интенсивности 36 регионов белого вещества головного мозга. Построенная с помощью метода опорных векторов мультимодальная модель классификации характеризуется высокой чувствительностью (0,75) и специфичностью (0,81), что позволит улучшить качество диагностики шизофрении.

Ключевые слова: шизофрения, машинное обучение, фМРТ, мультимодальный анализ данных.

Шизофрения является многогранным психиатрическим расстройством, оказывающим глубокое влияние на жизнь людей, что требует ранней и точной диагностики для эффективного планирования лечения [1]. В данном исследовании представлен подход с использованием передовых нейровизуализационных техник, а именно — функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) и структурной магнитно-резонансной томографии (сМРТ)

в сочетании с данными об изменениях в липидном составе ключевых регионов белого вещества человеческого мозга для повышения точности диагностики шизофрении. Вклад нашего исследования заключается во включении информации о липидном составе белого вещества. Такие дополнительные признаки имеют критическое значение для понимания сложных биологических основ шизофрении. Особое внимание уделяется анализу данных о липидных интенсивностях, полученных из лобных и височных долей левого полушария, включая мозолистое тело, поясной пучок, верхнюю часть лучистого венца, средний продольный пучок, верхнюю височную извилину и угловую извилину, регионы, значительно измененные у пациентов с шизофренией по данным МРТ, подтвержденные с использованием Атласа мозга Аллена [2].

Используя открытый набор данных COBRE [3], который включает нейровизуализационные данные от 123 субъектов, включая 69 здоровых испытуемых и 54 пациентов с диагнозом шизофрения, мы применили подход к слиянию данных разных модальностей. С помощью моделей машинного обучения — логистической регрессии, случайного леса, метода опорных векторов (SVM), метода градиентного бустинга (XGBoost) — мы анализировали и интегрировали признаки, извлеченные из данных фМРТ и сМРТ, вместе с данными о липидных интенсивностях. Признаки фМРТ отражают функциональную активность мозга и связность областей друг с другом, что имеет решающее значение для расшифровки аномальных паттернов нейронной синхронизации, в то время как признаки сМРТ дают представление об анатомических изменениях в структурах мозга. Включение сведений о концентрациях липидов в качестве признака представляет возможность проводить более комплексный анализ гемодинамических и биохимических изменений, ассоциированных с шизофренией.

Данные были предобработаны следующим образом: нормализация фМРТ и стандартизация, за которой следовал отбор признаков с использованием SelectKBest, сосредоточенный на морфометрии для выявления наиболее значимых структурных признаков в задаче классификации. Наш метод слияния данных, объединяющий пространственные, временные и биохимические признаки, улучшает способность различать пациентов с шизофренией и здоровых контрольных. Оценка эффективности модели, основанной на макро-метрике F1, подчеркивает рост в точности предсказания с увеличением оценки F1 до 0,77, превосходящей предсказательную

производительность традиционных подходов с одной модальностью: фМРТ с F1 0,75, сМРТ с F1 0,65 и F1 для данных о липидных интенсивностях, равной 0,58.

Проведенный анализ подтверждает значимость совмещения данных о липидном профиле с мультимодальными нейровизуализационными данными для повышения точности диагностирования шизофрении.

Список литературы

1. Sharaev M.G., et al. Diagnosis of Schizophrenia Based on the Data of Various Modalities: Biomarkers and Machine Learning Techniques (Review) // *Соврем. технол. мед.* — 2022. — № 5 (eng).
2. Senko D., et al. White matter lipidome alterations in the schizophrenia brain. — 10.1101/2023.11.27.568452.
3. Center for Biomedical Research Excellence // *Cobre phase 3.* — 2023. — URL: <https://www.mrn.org/common/cobre-phase-3>.

APPLICATION OF MACHINE LEARNING METHODS TO COMBINE MULTIMODAL NEUROIMAGING DATA IN THE DIAGNOSIS OF SCHIZOPHRENIA

Abstract. This study examines the possibilities of using multimodal machine learning methods to improve the quality of diagnosis of schizophrenia. The data set included connectivity matrices of functional magnetic resonance imaging of the COBRE dataset of 54 patients with schizophrenia and 69 healthy subjects, MR morphometry and information on lipid intensity levels of 36 regions of the white matter of the brain. The multimodal classification model constructed using the support vector machine is characterized by high sensitivity (0.75) and specificity (0.81), which will improve the quality of diagnosis of schizophrenia.

Key words: schizophrenia, machine learning, fMRI, multimodal data analysis.

КОРТИКАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ МОТОРНОГО И ТАКТИЛЬНОГО ВООБРАЖЕНИЯ, ОЦЕНЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ ТМС-ЭЭГ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-114-116

А. О. Насибуллина¹, Л. В. Яковлев¹, Н. В. Сыров¹,
А. Я. Каплан^{1,2}, М. А. Лебедев^{2,3}

¹Сколковский Институт Науки и Технологий, Москва, Россия

²Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

³Институт Эволюционной Физиологии и Биохимии им. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: aigul.nasibullina@skoltech.ru

Аннотация. В этой работе мы изучили влияние моторного и тактильного типов воображения на кортикальную возбудимость при помощи транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС), совмещенной с электроэнцефалографией (ЭЭГ). Оказалось, что оба типа воображения влияют на возбудимость первичной моторной коры. Были обнаружены специфичные компоненты ТМС-вызванных потенциалов (ТВП) к разным типам воображения.

Ключевые слова: моторное воображение, тактильное воображение, ТМС, ЭЭГ, кортикальная возбудимость.

Изучение механизмов формирования мысленных двигательных образов и ассоциированных с ними сенсорных ощущений вносит вклад в фундаментальное понимание работы сенсомоторных отделов коры больших полушарий. В частности известно, что воображение движений приводит к изменениям пластичности коры за счет роста кортикоспинальной возбудимости [1]. Исследования в этой области могут быть полезны для разработки и совершенствования программ реабилитации двигательных и сенсорных нарушений.

Несмотря на то, что феномен двигательного воображения хорошо представлен в литературе, тактильное воображение, не связанное с движениями, до сих пор изучено недостаточно [2]. Наши

предыдущие результаты показали, что как двигательный, так и тактильный типы воображения увеличивают амплитуды моторных вызванных потенциалов (МВП). При этом эффекты воображения различались: воображение движений приводило к более выраженному развитию эффекта по сравнению с тактильным [3]. В настоящем исследовании мы старались заполнить существующий пробел, изучив как изменяется кортикальная возбудимость во время моторного и тактильного типов воображения с использованием совмещенной регистрации ТМС-ЭЭГ.

Десять здоровых добровольцев приняли участие в экспериментальной серии. Оценка кортикальной возбудимости осуществлялась с использованием одиночной нейронавигируемой ТМС в область М1, совмещенной с регистрацией 64-канальной ЭЭГ. Для позиционирования катушки стимулятора использовались индивидуальные структурные изображения магнитно-резонансной томографии (МРТ). Регистрация проводилась в состоянии покоя, при тактильном воображении, двигательном воображении и тактильной стимуляции. Сравнение амплитуд пиков ТМС-вызванных потенциалов (ТВП) между состояниями проводилось при помощи непараметрического, основанного на кластерах теста с перестановками (количество перестановок 10 000).

Мы обнаружили, что при моторном воображении снижается амплитуда компоненты N15 ($p < 0,001$) по сравнению с состоянием покоя в центрo-париетальной группе каналов (CP5, FC5, C5). Также при моторном воображении наблюдался рост компонента P30 у канала FC1 ($p < 0,001$). При тактильном воображении наблюдалось увеличение амплитуды более поздних компонент P30 и P60 (для каналов C1, FC3), а также компоненты N100 (FC5, FC1, C5) по сравнению с покоем ($p < 0,001$). Схожие по направленности результаты наблюдались и для условия тактильной стимуляции. Интересно то, что часть эффектов была сходной для условий воображения (как тактильного, так и моторного) — увеличение амплитуды P30 во фронто-центральной области, в то время как изменение амплитуды N15 наблюдалось только для моторного воображения в центрo-париетальной группе каналов. Считается, что амплитуды ТВП определяются различными типами синаптической передачи [4]. Таким образом, наблюдаемые различия свидетельствуют о вкладе разных типов нейротрансмиссии в реализацию механизмов воображения и обработки сенсорной информации.

Список литературы

1. Fadiga L., et al. Corticospinal excitability is specifically modulated by motor imagery: a magnetic stimulation study// *Neuropsychologia*. — 1998. — V. 37. — No 2. — P. 147–158.
2. Yakovlev L., et al. Event-related desynchronization induced by tactile imagery: An EEG study// *eneuro*. — 2023. — V. 10. — No 6.
3. Morozova M., et al. Tactile versus Motor Imagery: Differences in Corticospinal Excitability Assessed with single-pulse TMS// *bioRxiv*. — 2023. — P. 2023.10. 16.562530.
4. Premoli I., et al. TMS-EEG signatures of GABAergic neurotransmission in the human cortex// *Journal of Neuroscience*. — 2014. — V. 34. — No 16. — P. 5603–5612.

CORTICAL EFFECTS OF MOTOR AND TACTILE IMAGINATION ASSESSED USING TMS-EEG

Abstract. In this work, we studied the effect of motor and tactile types of imagination on cortical excitability using transcranial magnetic stimulation (TMS) combined with electroencephalography (EEG). It turned out that both types of imagination affect the excitability of the primary motor cortex. Specific components of TMS-induced potentials (TIP) for different types of imagination have been found.

Key words: motor imagination, tactile imagination, TMS, EEG, cortical excitability.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК К ГАНКИРИНУ КАК ЭЛЕМЕНТА КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ГЛИОБЛАСТОМ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-117-119

Д. Ю. Травникова^{1,2}, В. С. Шашковская^{1,2},
М. Ю. Кордюкова³, Ю. В. Котелевцев¹, Т. О. Абакумова²

¹Сколковский институт наук и технологий, Москва

²РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва

³ФГБУ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва

E-mail: darija-travnikova@yandex.ru

Аннотация. Применение малых интерферирующих РНК (миРНК) является перспективным подходом для повышения чувствительности глиом к химиотерапии. В данной работе была оценена экспрессия онкогена ганкирина, проанализирована эффективность различных миРНК, показан синергический эффект миРНК и химиотерапевтических препаратов на клетках 3 линий глиобластом.

Ключевые слова: глиобластома, химиорезистентность, РНК-интерференция, миРНК, ганкирин.

Глиобластома представляет собой наиболее агрессивную форму злокачественной опухоли головного мозга. Низкая выживаемость и высокая смертность пациентов обусловлена локализацией опухоли, ее инвазивным ростом и многочисленными механизмами лекарственной устойчивости глиобластом. Согласно официальным данным, пятилетняя выживаемость составляет около 6–7%, при этом данные показатели почти не изменились за последние 30 лет [1] несмотря на прогресс медицины. РНК-интерференция может служить новым многообещающим способом лечения. Малые интерферирующие РНК (миРНК) способствуют избирательной деградации мРНК и могут быть направлены на гены прогрессирования и роста опухоли, а также химиорезистентности. Одним из таких потенциальных генов-таргетов является ганкирин (*PSMD10*), так как он имеет повышенную экспрессию во многих видах опухолей, а также

показал свою эффективность при комбинированной терапии с рафенибом в гепатоцеллюлярной карциноме [2]. Таким образом, целью данной работы является оценка эффективности использования миРНК к ганкирину в комбинированной терапии с химиопрепаратами (цисплатин, доксорубицин).

Основная работа была проведена на линиях U87, СТ2а и GL261, дополнительно мы использовали клеточный материал, полученный от пациентов. На первом этапе было показано, что уровень мРНК ганкирина в 2 раза выше в линиях GL261 и U87 и в 1,5 раз в большинстве первичных линий глиобластом. Анализ был проведен с помощью ПЦР в реальном времени. На следующем этапе нами были проанализированы различные миРНК как в мышинных, так и в человеческих линиях глиобластом, и дальнейшая работа проводилась только с миРНК, подавляющими экспрессию гена на 80–90% уже после 24 часов трансфекции с помощью липофектамина. Вместе с тем мы показали, что уровень белка ганкирина начинает значительно снижаться спустя 48 часов и почти исчезает на 3 день после трансфекции. Далее мы оценили цитотоксичность миРНК с помощью резазурина-теста. Наиболее чувствительна к ингибированию ганкирина оказалась линия GL261, у которой выживаемость снизилась на 40%, в то время как у остальных линий этот показатель колебался в пределах 10–20%. Как следствие, мы установили, что под действием миРНК большая часть клеток погибает путем апоптоза (Apoptosis/Necrosis kit), генерируя активные формы кислорода (H2DCFDA assay).

При лечении исключительно доксорубицином и цисплатином процент жизнеспособности клеток GL261 составил 72 и 88,7% соответственно. Одновременная терапия миРНК и цитостатическими веществами помогла снизить клеточную выживаемость еще на 20%. Аналогичная тенденция была отмечена в экспериментах по цитотоксичности с клетками U87, где нокдаун ганкирина усиливал лекарственную терапию на 28–32%. Однако клетки СТ2а проявили меньшую чувствительность к ингибированию ганкирина, возможно, это связано с его низкой экспрессией в этой клеточной линии. Получить заметный эффект удалось только с цисплатином: выживаемость при добавлении миРНК снизилась с 78 до 53%. Таким образом, мы показали, что миРНК к ганкирину, самостоятельно или как элементы комбинированного лечения, могут служить новой потенциальной терапией глиобластом.

Список литературы

1. Alexopoulos G., et al. Long-term time series forecasting and updates on survival analysis of glioblastoma multiforme: a 1975–2018 population-based study// Neuroepidemiology. — 2022. — V. 56. — No 2. — P. 75–89.
2. Prikazchikova T.A., et al. Design and Validation of siRNA Targeting Gankyrin in the Murine Liver// Russian Journal of Bioorganic Chemistry. — 2021. — V. 47. — No 2. — P. 441–446.

PROSPECTS FOR THE APPLICATION OF SMALL INTERFERING RNAs TO GANKYRIN AS AN ELEMENT OF COMBINED GLIOBLASTOMA TREATMENT

Abstract. The use of small interfering RNAs (siRNAs) is a promising approach to increase the sensitivity of gliomas to chemotherapy. In this work, the expression of the oncogene gankyrin was evaluated, the effectiveness of various siRNAs was analyzed, and the synergistic effect of siRNAs and chemotherapeutic drugs on cells of 3 glioblastoma lines was shown.

Key words: glioblastoma, chemoresistance, RNA interference, siRNA, gankyrin.

**СЕКЦИЯ
«НЕЙРОМЕДИЦИНА»**

РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ФОРМИРОВАНИИ МИКРООКРУЖЕНИЯ ГЛИОБЛАСТОМЫ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-121-123

Э. П. Янышева^{1,4}, Д. П. Кирсова², С. М. Кузнецова^{1,4},
М. М. Пуленова², М. В. Ширманова³, В. П. Баклаушев^{1,2},
Г. М. Юсубалиева^{1,2}

¹Федеральный научно-клинический центр специализированных видов
медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА, Москва, Россия

²Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва,
Россия

³Приволжский национальный исследовательский медицинский
университет, Н. Новгород, Россия

⁴Первый Московский государственный медицинский университет
имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

E-mail: ElviraY2000@yandex.ru

Аннотация. Опухолевое микроокружение считается одной из основных причин высокой устойчивости глиобластомы к естественному иммунитету и применяемой в настоящий момент терапии. В данной работе исследовали миграцию в очаг глиомы регуляторных Т-лимфоцитов — ключевых компонентов иммуносупрессии в микроокружении опухоли — на трансгенной линии мышей C57Bl/6-FoxP3-eGFP.

Ключевые слова: регуляторные Т-лимфоциты, глиобластома, глиома, опухолевое микроокружение, иммуносупрессия.

Глиобластома является самой распространенной опухолью головного мозга и связана с крайне неблагоприятным прогнозом у пациентов. Высокая устойчивость глиобластомы к естественному противоопухолевому иммунитету и стандартной терапии обусловлена сложным многокомпонентным микроокружением и высокой гетерогенностью опухоли. Регуляторные Т-лимфоциты (Treg) являются одной из ключевых субпопуляций лимфоцитов в иммуно-

супрессии при глиобластоме [1]. Кроме того, существуют данные о мезенхимальных стволовых клетках (МСК) как важных регуляторах опухолевого микроокружения, способствующих прогрессированию опухоли и терапевтической резистентности [2]. Целью работы была оценка миграции регуляторных Т-клеток в очаг опухоли в процессе динамического роста глиомы, а также изменения сигнала FoxP3 при введении МСК.

Работа выполнена на трансгенной линии мышей C57Bl/6-FoxP3-eGFP (виварий НИИ ЭО и БМТ, Нижний Новгород). В ходе эксперимента мышам ортотопически имплантировали глиому GL261 (Stereotaxis, RWD). Также одной группе мышей вводили МСК (стереотаксически и внутривенно). С помощью метода интравитальной микроскопии (Nikon Eclipse Ti-E) отслеживали инфильтрацию опухолевого очага в динамике при дополнительном внутривенном введении маркеров субпопуляций лимфоцитов. Далее мозг извлекали и делали срезы для последующей иммуноцитохимии. Результаты ИЦХ оценивали конфокальной лазерной сканирующей микроскопией (Nikon Eclipse Ti-2).

На полученных изображениях определялась инфильтрация регуляторными Т-лимфоцитами микроокружения опухоли и колокализация Treg, МСК и клеток глиомы. В процессе роста глиобластомы процент Treg среди всех привлеченных клеток оставался примерно одинаковым. Значимых отличий в экспрессии FoxP3 при введении мезенхимальных стволовых клеток не выявлено. С одной стороны, такие результаты могут быть связаны с тем, что регуляторные Т-клетки мигрируют в зону опухоли уже в первые сутки после имплантации, с другой — с увеличением абсолютного числа Treg по мере прогрессии глиобластомы.

Более глубокое понимание функционирования и взаимодействия компонентов опухолевого микроокружения, в частности регуляторных Т-клеток, является важным для совершенствования уже существующих терапевтических подходов и создания принципиально новых методов лечения пациентов с глиобластомой.

Работа финансирована из средств гранта РФФИ №21-74-20110 и гранта РФФИ №22-64-00057.

Список литературы

1. Ohue Y., Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target?// Cancer Science. — 2019. — Vol. 110. — No 7. — P. 2080–2089.
2. Zhang Q., et al. Potential functions and therapeutic implications of glioma-resident mesenchymal stem cells// Cell Biol Toxicol. — 2023. — Vol. 39. — No 3. — P. 853–866.

THE ROLE OF REGULATORY T-LYMPHOCYTES AND TUMOR-ASSOCIATED MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE FORMATION OF THE GLIOBLASTOMA MICROENVIRONMENT

Abstract. The tumor microenvironment is considered one of the main reasons for the high resistance of glioblastoma to natural immunity and currently used therapy. In this work, migration of regulatory T-lymphocytes — key components of immunosuppression in the tumor microenvironment — to the glioma focus was studied in a transgenic mouse line C57Bl/6-FoxP3-eGFP.

Key words: regulatory T-lymphocytes, glioblastoma, glioma, tumor microenvironment, immunosuppression.

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА ГЕННОЙ ТЕРАПИИ “SILENCE-AND-REPLACE” ДЛЯ GNAO1-ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-124-126

А. Юсеф^{1,2}, Е. А. Лунев³, А. А. Карань², М. В. Бардина³

¹Московский физико-технический институт, Москва, Россия

²ООО «Марлин Биотех», Сочи, Россия

³Лаборатория моделирования и терапии наследственных заболеваний,

Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, Россия

E-mail: a.yousef.marlin@gmail.com

Аннотация. Работа посвящена разработке генной терапии на основе аденоассоциированных вирусов (ААВ) для неврологического заболевания GNAO1-энцефалопатия. Мы создали ААВ-вектор для реализации стратегии «Silence-and-Replace», универсальной для всех патогенных вариантов гена *GNAO1*. В клеточных культурах мы продемонстрировали, что ААВ-вектор снижает экспрессию *GNAO1* дикого типа и обеспечивает синтез здоровой копии *GNAO1* с кодон-оптимизацией. Наши результаты могут быть использованы для создания прототипа препарата и доклинических испытаний.

Ключевые слова: *GNAO1*-энцефалопатия, генная терапия, аденоассоциированные вирусы, Silence-and-Replace.

GNAO1-энцефалопатия является орфанным неврологическим заболеванием, вызванным гетерозиготными вариантами гена *GNAO1*. Заболевание проявляется преимущественно в виде младенческой эпилепсии и/или нарушением развития мозга с непроизвольными движениями [1]. Ген *GNAO1* кодирует альфа-субъединицу гетеротримерного G-белка ($G_{\alpha o}$), которая играет важную роль в передаче сигналов. $G_{\alpha o}$ широко распространен в центральной нервной системе, особенно в полосатом теле, таламусе, черной субстанции и мозжечке [2]. Различные мутации в *GNAO1* могут приводить к потере или усилению функции белка $G_{\alpha o}$, а также к доминантно-негативной активности. Генная терапия с использованием аденоассоциированных вирусов (ААВ) является перспективной для лечения таких заболеваний.

Нашей целью является разработка универсальной генной терапии “Silence-and-Replace” для большинства мутаций *GNAO1*. Подход заключается в подавлении экспрессии эндогенного *GNAO1* (Silence) эффекторами РНК интерференции и доставке функциональной копии гена, устойчивой к подавлению (Replace). На первом этапе мы выбрали искусственную микроРНК для подавления *GNAO1*, а также создали CDS *GNAO1* с кодон-оптимизацией (*coGNAO1*), обеспечивающей устойчивость к подавлению. Затем мы сконструировали плазмидный ААВ-вектор для одновременной экспрессии искусственной микроРНК и *coGNAO1* с НА-тагом под контролем CMV-промотора. Полученный ААВ-вектор мы проверили в культуре клеток НЕК293Т методами ОТ-кПЦР и вестерн-блота. Мы подтвердили эффективную экспрессию *coGNAO1*, а также устойчивость к подавлению эффекторами РНК интерференции. На следующем этапе мы проверили функциональность компонентов ААВ-вектора в первичной культуре нейронов, выделенных из цельного мозга новорожденных мышей. Мы собрали рекомбинантные частицы ААВ серотипа DJ и заражали нейроны при множественности инфекции 10^5 геномных копий на клетку. ААВ-вектор обеспечивал эффективную экспрессию гетерологичного *coGNAO1*, существенно превышающую уровень мРНК и белка эндогенного *Gnao1*. Таким образом, созданный нами ААВ-вектор, несущий *coGNAO1* и микроРНК, является хорошим кандидатом для изучения подхода «Silence-and-Replace», поскольку соответствует ожидаемым параметрам.

В дальнейшем мы планируем протестировать подход “Silence-and-Replace” в пациент-специфических нейронах с патогенным вариантом *GNAO1* с.607G>A (p.G203R). Результаты исследования прояснят перспективы генной терапии Silence-and-Replace для лечения *GNAO1*-энцефалопатии.

*Исследование выполнено за счет гранта
Российского научного фонда
№ 23-25-00323, <https://rscf.ru/project/23-25-00323/>*

Список литературы

1. Feng H., Khalil S., Neubig R.R., Sidiropoulos C. A mechanistic review on *GNAO1*-associated movement disorder // *Neurobiol Dis.* — 2018. — No 116. — P. 131–141.

2. Polikarpova A. V., Egorova T. V., Lunev E. A., Tsitrina A. A., Vassilieva S. G., Savchenko I. M., Silaeva Y. Y., Deykin A. V. & Bardina M. V. CRISPR/Cas9-generated mouse model with humanizing single-base substitution in the *Gnao1* for safety studies of RNA therapeutics// *Frontiers in genome editing*. — 2023. — No 5. — P. 1034720.

DEVELOPMENT OF A “SILENCE-AND-REPLACE” GENE THERAPY APPROACH FOR GNAO1-ENCEPHALOPATHY

Abstract. The work is devoted to the development of gene therapy based on adeno-associated viruses (AAV) for the neurological disease GNAO1-encephalopathy. We have created an AAV vector to implement the “Silence-and-Replace” strategy, which is universal for all pathogenic variants of the *gnao1* gene. In cell cultures, we have demonstrated that the AAV vector reduces the expression of wild-type *GNAO1* and ensures the synthesis of a healthy copy of *GNAO1* with codon optimization. Our results can be used to create a prototype of the drug and pre-clinical trials.

Key words: GNAO1-encephalopathy, gene therapy, adeno-associated viruses, Silence-and-Replace.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ВОДОРАСТВОРИМОГО ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-127-129

В. В. Миронов^{1,2}, В. П. Медведева^{1,2}, Н. В. Хмиль²,
Н. В. Хундерякова², Н. В. Белослудцева², А. Е. Мальков²,
Т. В. Полякова^{1,2}, И. В. Булгин¹, Г. Д. Миронова^{1,2}

¹ФГБУН институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Пушино, Россия

²Пушинский государственный естественно-научный институт, Пушино,
Россия

E-mail: bceblac@mail.ru

Аннотация. Болезнь Паркинсона — распространенное нейродегенеративное заболевание с прогрессирующим разрушением дофаминергических нейронов. В данной работе изучалось защитное действие водорастворимой формы дигидрокверцетина при моделировании патологии у крыс, вызванной введением 6-гидроксидофамина. Результаты показали, что дигидрокверцетин обладает нейропротекторным действием и может быть использован для предупреждения и лечения этого заболевания.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, 6-гидроксидофамин, аква тасифолин, дигидрокверцетин водорастворимый.

Болезнь Паркинсона (БП) — это распространенное нейродегенеративное заболевание, вызываемое прогрессирующей дегенерацией дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции и полосатом теле, участвующих в инициации двигательной активности [1; 2]. На данный момент БП является неизлечимым заболеванием и поиск новых подходов к его предупреждению и лечению является актуальной задачей в биомедицине.

Целью данной работы стало изучить защитное действие водорастворимой формы дигидрокверцетина на модели болезни Паркинсона, вызванной введением нейротоксина 6-гидроксидофамина

(6-OHDA). Модель заболевания воспроизводилась на самцах крыс линии Wistar, весом ~250 грамм, путем унилатерального стереотаксического введения в полосатое тело мозга крыс. Животные содержались с соблюдением всех норм и все эксперименты выполнены с учетом рекомендаций Европейской конвенции о гуманном обращении.

В работе были использованы современные биофизические и биохимические методы исследования такие как: световая и электронная микроскопии для определения структурных изменений в ткани мозга, флуориметрический и спектрофотометрический методы определения скорости образования H_2O_2 и содержания продуктов перекисного окисления липидов, определение Ca^{2+} -емкости митохондрий, определения параметров дыхания и фосфорилирования митохондрий мозга крыс. Вместе с этим проводились поведенческие тесты: «Открытое поле», «Ротарод» и «Степ-тест».

Ранее в нашей лаборатории на культуре клеток мозга в ишемия-подобных условиях было проведено сравнительное исследование действия классического дигидрохверцетина и его водорастворимой формы («аква Таксифолина»). Показано, более эффективное антиоксидантное и антигипоксикантное действие последнего [3]. Учитывая эти данные, в настоящей работе, для снятия отрицательного действия нейротоксина, использовался «аква Таксифолин». Терапевтическое применение «Таксифолина-аква» приводило к увеличению кальциевой емкости, уменьшению скорости образования H_2O_2 и продуктов перекисного окисления липидов в митохондриях мозга в нейротоксической модели болезни Паркинсона. Кроме этого, наблюдались значительные улучшения в двигательной активности животных, уменьшалось число поврежденных нейронов в чёрной субстанции и полосатом теле мозга. Полученные данные позволяют судить о нейропротекторном действии «Таксифолина-аква» и возможности его дальнейшего применения для предупреждения и лечения болезни Паркинсона.

Работа поддержана грантом РФ № 23-25-00441.

Список литературы

1. Blesa J., Trigo-Damas I., Quiroga-Varela A., Jackson-Lewis V.R. Oxidative stress and Parkinson's disease// Front Neuroanat. — 2015 Jul. — V. 8. — No 9. — P. 91. — doi: 10.3389/fnana.2015.00091.

2. Konnova A. E., Swanberg M. Animal models of Parkinson's disease // Parkinson's Disease: Pathogenesis and clinical aspects / Ed.: Stoker T. B., Greenland J. C. — Brisbane (AU): Codon Publications. — 2018. — doi: 10.15586/codonpublications.parkinsonsdisease.2018.ch5
3. Uspalenko N. I., Mosentsov A. A., Khmil N. V., Pavlik L. L., Belosludtseva N. V., Khunderyakova N. V., Shigaeva M. I., Medvedeva V. P., Malkov A. E., Kitchigina V. F., Mironova G. D. Uridine as a Regulator of Functional and Ultrastructural Changes in the Brain of Rats in a Model of 6-OHDA-Induced Parkinson's Disease. — Int J Mol Sci. — 2023 Sep. — V. 19. — No 24 (18). — P. 14304. — doi: 10.3390/ijms241814304.

THERAPEUTIC EFFECT OF WATER-SOLUBLE DIHYDROQUERCETIN ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF ANIMALS IN MODELING PARKINSON'S DISEASE

Abstract. Parkinson's disease is a common neurodegenerative disease with progressive destruction of dopaminergic neurons. In this work, the protective effect of the water-soluble form of dihydroquercetin was studied in modeling pathology in rats caused by the administration of 6-hydroxydopamine. The results showed that dihydroquercetin has a neuroprotective effect and can be used to prevent and treat this disease.

Key words: Parkinson's disease, 6-hydroxydopamine, aqua taxifolin, water-soluble dihydroquercetin.

ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КУЛЬТУРЫ АСТРОЦИТОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ НОВЫХ МОДУЛЯТОРОВ НИКОТИНАМИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-130-132

Д. Е. Нарзаева^{1,2}, Н. А. Колотьева²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

²ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

E-mail: narzaeva.diana@yandex.ru

Аннотация. Исследование посвящено изучению влияния новых модуляторов НАМРТ на жизнеспособность культуры астроцитов под воздействием окислительного стресса. Мы показали, что активаторы NA-00723, NA-00762 стимулируют интенсивность флуоресценции митохондрий, в то время как ингибитор NA-00192 вызывает снижение этого показателя. Новые модуляторы не оказывают цитотоксического эффекта на астроциты, что говорит об их безопасности.

Ключевые слова: астроциты, модуляторы НАМРТ, никотинамидфосфорбозилтрансфераза, НАД+, жизнеспособность, окислительный стресс.

Никотинамидадениндинуклеотид (НАД+) является ключевой молекулой в метаболизме, принимает участие во многих процессах, включая поддержание митохондриального гомеостаза, адаптацию и выживание клеток в условиях стресса [2]. При нейродегенеративных заболеваниях происходит снижение уровня НАД+, что приводит к метаболическим нарушениям, гибели клеток центральной нервной системы. В последние несколько лет ведется поиск в области синтеза новых низкомолекулярных гетероциклических молекул, влияющих на активность НАД+-синтезирующих ферментов, которые могли бы проходить через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и применяться в качестве таргетной терапии нейродегенеративных заболеваний. Такими молекулами стали модуляторы НАД+-синтезирующего фермента НАМРТ. Цель исследования состоит в изучении влияния новых модуляторов (активаторы и ингибиторы) НАМРТ на жизнеспособность первичной культуры астроцитов.

Культуру астроцитов получали из новорожденных крыс линии Wistar методом ферментно-механической диссоциации [1]. Все экспериментальные протоколы одобрены Этическим советом ФГБНУ НЦН (протокол № 9-5/23 от 29.11.2023 г.). Модуляторы NAMPT были синтезированы на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза химического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова. Первичную культуру астроцитов инкубировали с модуляторами NAMPT: активаторы NA-00762, NA-00723, NA-00763 и ингибитор NA-00192 в конечных концентрациях 0,048 мкМ, 1,2 мкМ и 30 мкМ в течение 24 часов при действии окислительного стресса и в его отсутствии. Окислительный стресс индуцировали перекистью водорода (Sigma, Великобритания) в конечной концентрации 0,25 мкМ. Оценку жизнеспособности астроцитов проводили с использованием МТТ-теста. Измерение мембранного митохондриального потенциала проводили с применением TMRE-теста (Abcam, Великобритания) с помощью спектрофотометра SpectraMax M2 (Molecular Devices, США). Статистический анализ данных проводили с помощью программ GraphPad Prism 7 для Windows (GraphPad Software Inc., США).

Было показано, что в условиях окислительного стресса активаторы NA-00723, NA-00762 статистически значимо увеличивали интенсивность флуоресценции митохондрий в астроцитах по сравнению с контрольной группой. Присутствие в ростовой среде ингибитора NAMPT NA-00192 вызвало статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции митохондрий в клетках по сравнению с контролем. Неактивные или деполяризованные митохондрии в условиях окислительного стресса не могут секвестрировать TMRE и имеют сниженный мембранный потенциал. Кроме того, было выявлено, что новые модуляторы NAMPT не оказывают цитотоксического эффекта на первичную культуру астроцитов во всех изучаемых концентрациях, что указывает на безопасность данных химических соединений и открывает возможности для дальнейшего изучения.

Поиск и изучение биологической роли и фармакотерапевтического потенциала новых соединений, влияющих на уровень НАД⁺, которые могут проникать через ГЭБ, является перспективным направлением. Дальнейшие исследования модуляторов NAMPT помогут в разработке таргетных препаратов для управления уровнем НАД⁺ в клетках головного мозга, что будет способствовать развитию нейрофармакологии, фармакотерапии, неврологии.

Список литературы

1. Стельмашук Е.В. и др. Влияние индуктора нейровоспаления на компоненты мозга нейроваскулярной единицы головного мозга *in vitro*// Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова —2022. — Т. 108. — № 5. — С. 686–696.
2. Lautrup S., et al. NAD⁺ in Brain Aging and Neurodegenerative Disorders// *Cell Metab.* — 2019. — V. 30. — No 4. — P. 630–655.

EVALUATION OF THE VIABILITY OF ASTROCYTE CULTURE UNDER THE INFLUENCE OF NEW NICOTINAMIDE ADENINE DINUCLEOTIDE MODULATORS

Abstract. The study is devoted to investigation of the effect of new NAMPT modulators on the viability of astrocyte culture under the influence of oxidative stress. We have shown that the activators NA-00723, NA-00762 stimulate the intensity of mitochondrial fluorescence, while the inhibitor NA-00192 causes a decrease in this indicator. The new modulators do not have a cytotoxic effect on astrocytes, which indicates their safety.

Key words: astrocytes, NAMPT modulators, nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAD⁺, viability, oxidative stress.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ БАКЛОФЕНА И ПРОИЗВОДНОГО 4-ФЕНИЛПИРРОЛИДОНА ГИЖ-290 НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ ОБСЕССИВНО-КОМПУЛЬСИВНОГО РАССТРОЙСТВА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-133-135

Я. С. Козин, П.Л. Наплёкова, А.О. Королев,
Н. В. Кудряшов

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских
и фармацевтических технологий», Москва, Россия

E-mail: kozin_yaroslav@mail.ru

Аннотация. Изучены эффекты баклофена и производного 4-фенилпирролидона ГИЖ-290 на экспериментальных моделях обсессивно-компульсивного расстройства при различных режимах введения в сравнении с флуоксетином. Установлено, что флуоксетин, баклофен и ГИЖ-290 ослабляют компульсивно подобное поведение мышей в тесте «Закапывание шариков» независимо от продолжительности введения, а на модели вызванного 8-ОН-ДРАТ нарушения спонтанного чередования — только после хронического введения.

Ключевые слова: обсессивно-компульсивное расстройство, баклофен, ГИЖ-290, флуоксетин, 8-ОН-ДРАТ, мыши.

Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) — заболевание, характеризующееся появлением навязчивых мыслей, вызывающих у пациентов дистресс и тревогу (обсессий) и/или повторяющихся действий, направленных на нейтрализацию этого дистресса и тревоги (компульсий) [4]. Патогенез ОКР традиционно связывают с нарушениями в серотонинергической, дофаминергической и глутаматергической синаптической передаче кортико-стриато-таламо-кортикальной системы головного мозга (ГМ). В то же время данные литературы указывают на возможную роль ГАМКергической системы ГМ в патогенезе ОКР [2]. Синтезированное в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» производное 4-фенилпирролидона ГИЖ-290 обладает противосудорожным и прокогни-

тивными эффектами, которые, по-видимому, обусловлены взаимодействием с ГАМК_B- и метаботропными глутаматными рецепторами II группы [1]. Агонист ГАМК_B-рецепторов баклофен (БАК) является перспективным средством фармакотерапии ОКР, поскольку применяется для лечения родственного ОКР синдрома Туретта [3]. Цель исследования — изучение эффектов ГИЖ-290 и БАК в сравнении с флуоксетином (ФЛК) на экспериментальных моделях ОКР.

Исследование проведено на самцах ICR мышей. Влияние изучаемых веществ на компульсивноподобное поведение оценивали после однократного и хронического введения в тесте «Закапывание шариков» (ТЗШ) и на модели нарушения спонтанного чередования, вызванного 8-ОН-ДРАТ (2 мг/кг).

ФЛК (10 мг/кг) после однократного введения ослаблял компульсивноподобное поведение мышей только в ТЗШ, а при хроническом — в обеих моделях ОКР. БАК в ТЗШ уменьшал количество зарытых шариков ($p < 0,05$) — ослаблял компульсивноподобное поведение мышей после однократного введения в дозах 0,1, 1 и 5 мг/кг, а после хронического — только в дозе 1 мг/кг. На модели нарушения спонтанного чередования БАК после однократного введения не только не ослаблял эффект 8-ОН-ДРАТ, но и усиливал его в дозе 1 мг/кг ($p < 0,05$), а после хронического — ослаблял в дозе 1 мг/кг ($p < 0,05$). ГИЖ-290 в ТЗШ уменьшал количество зарытых шариков ($p < 0,05$) после однократного и хронического введения в дозах 0,01, 0,1 и 1 мг/кг. На модели вызванного 8-ОН-ДРАТ нарушения спонтанного чередования ГИЖ-290 ослаблял вызванное 8-ОН-ДРАТ нарушение только после хронического введения в дозах 0,1 и 1 мг/кг.

Таким образом, ФЛК, БАК и ГИЖ-290 ослабляют компульсивноподобное поведение мышей в ТЗШ после однократного и хронического введения, а на модели вызванного 8-ОН-ДРАТ нарушения спонтанного чередования — только после хронического введения.

Список литературы

1. Kovalev I. G., Vasil'eva E. V., Kondrakhin E. A., et al. The role of glutamate and GABA receptors in the anticonvulsive effects of levetiracetam and a 4-phenylpiperolidone derivative (GIZh-290) in rats// *Neurochem. J.* — 2017. — No 11. — P. 332–339. — <https://doi.org/10.1134/S1819712417040055>.

2. Biria M., Banca P., Healy M. P., et al. Cortical glutamate and GABA are related to compulsive behaviour in individuals with obsessive compulsive disorder and healthy controls// *Nat Commun.* — 2023. — No 14. — P. 3324. — <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38695-z>.
3. Roessner V., Plessen K.J., Rothenberger A., et al. European clinical guidelines for Tourette syndrome and other tic disorders. Part II: pharmacological treatment// *Eur Child Adolesc Psychiatry.* — 2011 Apr. — No 20(4). — P. 173–196. — doi: 10.1007/s00787-011-0163-7; Erratum in: *Eur Child Adolesc Psychiatry.* — 2011 Jul. — No 20(7). — P. 377. — PMID: 21445724; PMCID: PMC3065650.
4. Stein D.J., Costa D.L.C., Lochner C., et al. Obsessive-compulsive disorder// *Nat Rev Dis Primers.* — 2019.— No 5. — P. 52. — <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0102-3>.

STUDY OF THE EFFECTS OF BACLOFEN AND THE 4-PHENYLPYRROLIDONE DERIVATIVE GIZH-290 ON EXPERIMENTAL MODELS OF OBSESSIVE-COMPULSIVE DISORDER

Abstract. The effects of baclofen and the 4-phenylpyrrolidone derivative GIZh-290 were studied in experimental models of obsessive-compulsive disorder in various modes of administration in comparison with fluoxetine. It was found that fluoxetine, baclofen and GIZh-290 weaken compulsively similar behavior of mice in the “Marble burying” test regardless of the duration of administration, and in the model of spontaneous alternation disorder caused by 8-OH-DPAT — only after chronic administration.

Key words: obsessive-compulsive disorder, baclofen, GIZh-290, fluoxetine, 8-OH-DPAT, mice.

ИЗМЕНЕНИЕ ЛАТЕРАЛИЗОВАННОГО ПОТЕНЦИАЛА ГОТОВНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНСУЛЬТ, ВО ВРЕМЯ ДВИЖЕНИЙ ЗДОРОВОЙ И ПАРЕТИЧНОЙ РУКОЙ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-136-138

А. С. Медведева¹, Н. В. Сыров¹, Я. А. Алиева²,
Л. В. Яковлев¹, Д. А. Петрова¹, М. А. Лебедев³,
Г. Е. Иванова², А. Я. Каплан^{1,4}

¹Центр нейробиологии и нейрореабилитации имени Владимира Зельмана
Сколковского института науки и технологий, Москва, Россия

²Федеральный центр исследований мозга и нейротехнологий ФМБА,
Москва, Россия

³Механико-математический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

⁴Лаборатория нейрофизиологии и нейрокомпьютерных интерфейсов
биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва,
Россия

E-mail: Aleksandra.Medvedeva@skoltech.ru

Аннотация. Для пациентов, перенесших инсульт, восстановление двигательных функций конечностей является одной из ключевых проблем. Различные механизмы могут способствовать этому процессу, включая восстановление нервных путей в пораженном полушарии и участие здорового полушария. Исследование корковых потенциалов у 20 пациентов с гемиплегией после инсульта показало изменения в паттернах мозговой активности, связанных с движениями конечностей. Большинство пациентов демонстрировали атипичную латерализацию потенциала готовности к движению, что указывает на возможное участие обоих полушарий мозга в контроле движений конечностей.

Ключевые слова: инсульт, потенциал готовности, моторная функция, реабилитация.

Одной из важнейших проблем для пациентов, перенесших инсульт, становится нарушение двигательных функций конечностей, контралатеральных по отношению к пораженному полушарию.

Восстановлению двигательных функций после инсульта могут способствовать несколько разных механизмов. Самым распространённым из них является восстановление нервных путей в поражённом полушарии [3]. Однако вклад ипсилатерального полушария также широко обсуждается, в редких случаях оно может полностью отвечать за восстановление двигательных функций [2]. Латерализованный потенциал готовности (lateralized readiness potential — LRP) представляет собой один из маркеров межполушарного баланса в процессе двигательной подготовки. Это быстрое негативное отклонение, возникающее примерно за 200 мс до начала движения, отражает подготовительную активность первичной моторной коры (M1) [4]. В настоящее время динамика LRP у людей, перенесших инсульт, остается плохо изученной [1].

В данном исследовании мы рассмотрели корковые потенциалы, связанные с двигательной активностью, у 20 пациентов, столкнувшихся с гемиплегией после инсульта. В ходе эксперимента участникам было предложено выполнить задание на разгибание пальцев для нажатия на кнопки здоровой и паретичной рукой. В тех случаях, когда движение было невозможно выполнить, пациента просили представлять нужное движение, концентрируясь на руке. На протяжении исследования регистрировалась электроэнцефалографическая и электромиографическая активность. Мы наблюдали изменения в паттернах LRP у пациентов, перенесших инсульт, и смогли оценить вклад здорового полушария в функциональное восстановление паретичной конечности. У большинства пациентов с хроническим инсультом наблюдалась атипичная латерализация LRP, что может указывать на двустороннее участие M1 ипсилатерального полушария в контроле движений конечностей.

*Исследование выполнено при поддержке гранта
Российского научного фонда №21-75-30024.*

Список литературы

1. El Nahas N., Roushdy T. M., Shokri H. M., Moustafa R. R., Elsayed A. M., Amin R. M., Ashour A. A., Abd Eldayem E. H., Elhawary G. A., Elbokl A. M. Lateralized readiness potentials can identify hemisphere of recovery in stroke patients// Restorative Neurology and Neuroscience. — 2022. — No 40(2). — P. 63–71.

2. Jang S.H. A review of the ipsilateral motor pathway as a recovery mechanism in patients with stroke// *Neuro Rehabilitation*. — 2009. — No 24(4). — P. 315–320.
3. Jiang L., Xu H., Yu C. Brain connectivity plasticity in the motor network after ischemic stroke// *Neural Plasticity*. — 2013. — P. 924192.
4. Neafsey E.J. Conscious intention, and human action: Review of the rise and fall of the readiness potential and Libet's clock// *Consciousness and Cognition*. — 2021. — No 94. — P. 103171.

CHANGES IN LATERALIZED READINESS POTENTIAL IN STROKE PATIENTS DURING MOVEMENTS WITH A HEALTHY AND PARETIC ARM

Abstract. For stroke patients, the restoration of limb motor functions is one of the key challenges. Various mechanisms can contribute to this process, including the restoration of nerve pathways in the affected hemisphere and the involvement of the healthy hemisphere. A study of cortical potentials in 20 patients with hemiplegia after stroke showed changes in patterns of brain activity associated with limb movements. Most patients demonstrated atypical lateralization of the movement readiness potential, which indicates the possible involvement of both hemispheres of the brain in the control of limb movements.

Key words: stroke, readiness potential, motor function, rehabilitation.

ЧАСТНЫЙ СЛУЧАЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО ПОНТИННОГО МИЕЛИНОЛИЗА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-139-141

Т. А. Панкратова

Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

E-mail: tanyapankratova_1997@mail.ru

Аннотация. Разобран клинический случай пациента с центральным понтинным миелинолизом, диагноз которому поставлен на основании данных анамнеза, клинической картины и инструментальных методов диагностики. Полученная информация позволила сформировать портрет пациента с определённой МР-картиной.

Ключевые слова: центральный понтинный миелинолиз, демиелинизация, магнитно-резонансная томография.

Центральный понтинный миелинолиз (ЦПМ) — это ограниченная невоспалительная демиелинизация в области центральных отделов моста головного мозга. Частая причина развития ЦПМ — это коррекция гипонатриемии гипертоническим раствором, а также заболевания печени и алкоголизм [1]. В зависимости от локализации очагов демиелинизации клиническая картина может варьироваться от атаксии, тремора, псевдобульбарного синдрома, нарушения ходьбы и до центральной тетраплегии [2; 3]. Цель работы — проанализировать причины развития и особенности клинической картины ЦПМ на конкретном клиническом случае. Актуальность данного клинического случая обусловлена редкостью и малоизвестностью ЦПМ.

Из анамнеза известно, что Пациент М., 61 год, в ноябре 2023 г. проходил стационарное лечение по поводу перелома правой руки, где помимо оперативного лечения проводилась инфузионная терапия. Пациент отмечает, что в этот период у него развилось нарушение ходьбы. В марте 2024 г. в поезде после сна появилось нарушение речи, после чего в экстренном порядке был госпитализирован в неврологическое отделение. Также из анамнеза известно о злоупотреблении алкоголем.

Объективно при поступлении: состояние средней тяжести. Сознание ясное. Речь: дизартрия средней степени тяжести. Нистагма нет. Движение глазных яблок не изменено. Зрачки симметричные, OD=OS. Поля зрения не изменены. Лицо симметрично. Глотание не изменено. Сила в мышцах сохранена. Чувствительность не изменена. Мышечный тонус повышен. Сухожильные рефлексы с конечностей оживлены. Патологические знаки отсутствуют. ПНП выполняет удовлетворительно, ПКП с явлениями атаксии с двух сторон. Статико-локомоторная атаксия. Биохимический анализ крови: АЛТ-105, АСТ-269. На МРТ головного мозга и шеи с контрастным усилением выявлены зоны кистозно-глиозных изменений в области моста. Признаки церебральной микроангиопатии, умеренного расширения наружных ликворосодержащих пространств. Атрофия червя мозжечка.

Сочетание таких факторов как злоупотребление алкоголем, интенсивная инфузионная терапия на фоне гипонатриемии, нарушение функции печени привело к появлению ЦПМ. На основании данных клинической картины и результатов инструментальной диагностики был поставлен диагноз: понтинный миелинолиз с дизартрией, пирамидной недостаточностью, статико-локомоторной атаксией на фоне кистозно-глиозных изменений в мосту головного мозга, атрофии червя мозжечка по данным МРТ. Из вышесказанного следует, что необходимо строго соблюдать стандарты по коррекции электролитных нарушений.

Список литературы

1. Шевелева Е. М., Заславский Л. Г., Ковеленов А. Г., Скорнякова Е. А. Центральные понтинный и экстрапонтинный миелинолиз: обзор литературы и собственное наблюдение // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. — 2020. — № 27 (2). — С. 72–78. — DOI: 10.24884/1607-4181-2020-27-2-72-78.
2. Lambeck J., Hieber M., Dreßing A., Niesen W. D. Central Pontine Myelinolysis and Osmotic Demyelination Syndrome // Dtsch Arztebl Int. — 2019 Sep. — V. 2. — No 116 (35–36). — P. 600–606. — doi: 10.3238/arztebl.2019.0600. PMID: 31587708; PMCID: PMC6804268.
3. Singh T. D., Fugate J. E., Rabinstein A. A. Central pontine and extrapontine myelinolysis: a systematic review // Eur J Neurol. — 2014 Dec. — No 21 (12). — P. 1443–1450. — doi: 10.1111/ene.12571. Epub 2014 Sep 15. PMID: 25220878.

A SPECIAL CASE OF CENTRAL PONTINE MYELINOLYSIS

Abstract. The clinical case of a patient with central pontine myelinolysis, diagnosed on the basis of anamnesis, clinical picture and instrumental diagnostic methods, has been analyzed. The information obtained made it possible to form a portrait of the patient with a certain MRI picture.

Key words: central pontine myelinolysis, demyelination, magnetic resonance imaging.

АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ МИТОКСАНТРОНА И ТЕТРА(АРИЛ)ТЕТРАЦИАНОПОРФИРАЗИНА В КАЧЕСТВЕ ИНДУКТОРОВ ИММУНОГЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ ДЛЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ГЛИОМЫ ЧЕЛОВЕКА

DOI 10.24412/CL-37228-2024-142-144

**Е. Е. Слепцова, А. Р. Хузина, Т. С. Редькин, М. О. Савюк,
В. Д. Турубанова**

Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

E-mail: ees222@list.ru

Аннотация. В работе рассматривались два классических индуктора иммуногенной клеточной смерти в отношении первичных культур глиомы человека. Было показано, что химиопрепарат митоксантрон не является универсальным индуктором ICD в отличие от фотодинамической терапии с тетраарилтетрацианопорфразином.

Ключевые слова: иммуногенная клеточная смерть, глиома, фотодинамическая терапия, митоксантрон.

Существующие клинические протоколы лечения глиом низкоэффективны и разработка терапевтических стратегий лечения глиом является актуальной задачей. Иммунотерапия представляет собой перспективный подход к лечению рака, который может обеспечить широкий противоопухолевый ответ против гетерогенной клеточной популяции. Включение иммунотерапии при других опухолевых заболеваниях значительно увеличивает медианные значения выживаемости. Некоторые методы иммунотерапии основаны на иммуногенной клеточной смерти (ICD), в результате которой происходит высвобождение адьювантного сигнала DAMPs (damage-associated molecular patterns). На сегодняшний день потенциал активации ICD на первичных культурах глиом не исследовался

В качестве объекта исследования выступала клеточная культура первичной глиомы человека. Донором была пациентка 40 лет с первичной опухолью и диагнозом астроцитомы Grade III. Паци-

ентка прошла курс лучевой терапии, однако после хирургической резекции опухоли выживаемость составила 5 месяцев. Клетки, полученные от пациентки, были со статусом IDH mutant. Морфология клеток была близка к морфологии клеточных культур астроцитов человека. Культура отличалась высокой скоростью пролиферации.

В качестве тестируемых индукторов ICD использовались химиопрепарат митоксантрон (MTX) и фотодинамическое воздействие с использованием оригинального фотосенсибилизатора тетра(арил)тетрацианопорфиразина (pz III). Иммуногенность выбранных индукторов была подтверждена в предыдущих работах для клеточной линии мышинной глиомы GL261 [1; 2].

На первом этапе исследований оценивали цитотоксичность MTX и процесс накопления MTX в клетках глиомы с использованием конфокальной микроскопии. Клетки демонстрировали значительное повышение уровня препарата, преимущественно в ядре, что являлось многообещающим фактором эффективной апоптотической клеточной смерти.

Для более детального описания клеточной гибели опухолевых клеток проводился анализ методом проточной цитофлуориметрии с окраской Annexin V (окраска фосфатидилсерина на поверхности мембраны) и Sytox (интеркалирующий краситель). Результаты анализа показали, что значительное количество клеток погибало путем нерегулируемой клеточной смерти. Из-за низкой эффективности MTX в качестве индуктора регулируемой клеточной смерти дальнейшие исследования были сосредоточены на применении pz III для индукции ICD.

Было исследовано время поглощения pz III клетками первичной глиомы, оценивалась скорость накопления фотоагента, подобрана концентрация для индукции смерти и цитофлуориметрией была выявлена клеточная популяция, вносящая наибольших вклад в ICD. Был оценен паттерн высвобождения АТФ, одного из ключевых DAMPs при ICD. Результаты свидетельствуют о том, что изучаемый фотоагент может стать кандидатом в индукторы ICD на первичных глиомах человека, но требуется дополнительные эксперименты, расширяющие паттерн высвобождающихся DAMPs и детализация механизма клеточной смерти.

*Исследование выполнено при поддержке
министерства науки и высшего образования РФ
(грант № FSWR-2023-0029).*

Список литературы

1. Redkin T.S.; Sleptsova E.E., et al. Dendritic Cells Pulsed with Tumor Lysates Induced by Tetracyanotetra(aryl)porphyrazines-Based Photodynamic Therapy Effectively Trigger Anti-Tumor Immunity in an Orthotopic Mouse Glioma Model// *Pharmaceutics*. — 2023. — V. 15. — P. 2430. — doi: 10.3390/pharmaceutics15102430
2. Efimova I., Catanzaro E., et al. Vaccination with early ferroptotic cancer cells induces efficient antitumor immunity// *J Immunother Cancer*. — 2020. — T. 8. — V. 2. — doi: 10.1136/jitc-2020-001369.

ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF MITOXANTRONE AND TETRA(ARYL) TETRACYANOPORPHYRAZINE AS INDUCERS OF IMMUNOGENIC CELL DEATH FOR PRIMARY HUMAN GLIOMA CULTURE

Abstract. The paper considered two classical inducers of immunogenic cell death (ICD) in relation to primary human glioma cultures. It has been shown that the chemotherapy drug mitoxantrone is not a universal inducer of ICD, unlike photodynamic therapy with tetra(aryl)tetracyanoporphyrazine.

Key words: immunogenic cell death, glioma, photodynamic therapy, mitoxantrone.

ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ АУРАНОФИНА ДЛЯ МОНО- И КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМ И ДРУГИХ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-145-147

С. А. Синявский¹, М. Ю. Кордюкова², В. В. Белоусов²,
Т. О. Абакумова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия.

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» Федерального медико-биологического агентства России, Россия.

E-mail: semensiniavskii@mail.ru

Аннотация. Ауранофин — соединение золота, которое проявляет потенциальное противоопухолевое действие и может повышать чувствительность клеток различных опухолевых линий, в частности линий глиобластом, к различным терапевтическим препаратам. Определение ингибирующей концентрации для клеточных культур флуоресцентным анализом показало, что ауранофин может стать эффективным препаратом в моно- и комбинированной терапии глиобластом и онкологических заболеваний, устойчивых к лекарствам других классов.

Ключевые слова: глиобластома, рак, ауранофин, тиоредоксинредуктаза, терапия.

Ауранофин — соединение золота, используемое для лечения ревматоидного артрита на протяжении почти 40 лет. Благодаря его способности ингибировать высвобождение гистамина из базофилов и продукцию лейкотриенов, он оказывает противовоспалительную и иммуномодулирующую активность [1]. Но последние исследования показывают, что ауранофин также проявляет потенциальное противоопухолевое действие и может повышать чувствительность клеток различных опухолевых линий, в частности линий глиобластом, к различным терапевтическим препаратам [2]. Новый класс противоопухолевых лекарств даст возможность преодолеть

резистентность клеток злокачественных образований к тем препаратам, что активно применяются долгое время [3]. Целью работы стало изучение ауранофина как потенциального лекарства в моно- и комбинированной терапии онкологических заболеваний, в том числе и глиобластом.

Для определения эффективности ауранофина мы определяли IC₅₀ на следующих клеточных линиях: GL261, T98G, U-87, 4T1, MDA-MB-231, MCF-7, B16. Для этого мы инкубировали клеточные линии на 96-луночных планшетах с данным соединением в различных концентрациях в течение 24 часов. После определяли выживаемость культур путём инкубации с реагентом Alamar Blue и дальнейшим получением данных флуоресценции метаболитов красителя. Было установлено, что все клеточные линии оказались чувствительны к действию ауранофина, а самые чувствительные линии имели IC₅₀ в наномолярном диапазоне *in vitro*. Также для проверки возможности синергии ауранофина с другими препаратами был поставлен вышеописанный опыт, но инкубация линии U-87 с данным препаратом была осуществлена совместно с темозоломидом, используемом при лечении мультиформной глиобластомы. Данные цитотоксичности позволяют нам убедиться, что ауранофин повышает цитотоксичность темозоломида. Чтобы проверить эффективность комбинированного действия ауранофина на линиях, имеющие различную степень устойчивости к препарату, нами были поставлены опыты на линиях 4T1 и MDA-MB-231. Каждую культуру инкубировали с ауранофином совместно с цитостатиками (доксорубицином и паклитакселем). Опыт показал увеличение цитотоксичности данных цитостатиков.

Таким образом, опираясь на полученные результаты, мы предполагаем, что ауранофин может стать эффективным препаратом в моно- и комбинированной терапии глиобластом и онкологических заболеваний, устойчивых к лекарствам других классов.

Исследование выполнено в рамках государственного задания, номер государственной регистрации 124021400005-3.

Список литературы

1. International Immunopharmacology. — December 2021. — V. 101. — Part B. — 108272. «Auranofin: Past to Present, and repurposing». — <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.108272>.

2. Upgrade of an old drug: Auranofin in innovative cancer therapies to overcome drug resistance and to increase drug effectiveness// *Med Res Rev.* — 2022 May. — No 42 (3). — P. 1111–1146. — doi: 10.1002/med.21872.
3. Menadione Potentiates Auranofin-Induced Glioblastoma Cell Death// *Int. J. Mol. Sci.* — 2022. — No 23 (24). — P. 15712. — <https://doi.org/10.3390/ijms232415712>.

STUDYING THE PROSPECTS OF USING AURANOFIN FOR MONO- AND COMBINATION THERAPY OF GLIOBLASTOMA AND OTHER ONCOLOGICAL DISEASES

Abstract. Auranofin is a gold compound that exhibits a potential anti-tumor effect and can increase the sensitivity of cells of various tumor lines, in particular glioblastoma lines, to various therapeutic drugs. Determination of the inhibitory concentration for cell cultures by fluorescence analysis showed that auranofin can become an effective drug in mono- and combination therapy of glioblastomas and oncological diseases resistant to drugs of other classes.

Key words: glioblastoma, cancer, auranofin, thioredoxin reductase, therapy.

РАЗРАБОТКА СЛОЖНОЙ ТРЕХМЕРНОЙ МОДЕЛИ ОПУХОЛИ ГЛИБЛАСТОМЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ В КОКУЛЬТИВИРОВАНИИ СО СТРОМАЛЬНЫМИ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-148-150

С. М. Кузнецова^{1,3}, В. А. Кальсин¹, В. П. Баклаушев^{1,2},
Г. М. Юсубалиева^{1,2,4}

¹Федеральный научно-клинический центр специализированных видов
ФМБА России, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение Федеральный центр
мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва, Россия

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

⁴Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва,
Россия

E-mail: kuznetsovasm54@outlook.com

Аннотация. С целью поддержания своего роста и развития злокачественная опухоль взаимодействует с компонентами микроокружения и формирует опухолевую строму. В данной работе путем создания сложных сфероидов исследуется, какую роль в этих процессах играют эндотелиальные и мезенхимальные стволовые клетки.

Ключевые слова: глиобластома, 3D-модель, мезенхимальные стволовые клетки, сфероид.

Глиобластома (ГБМ) — первичная злокачественная опухоль ЦНС, наиболее распространенная и агрессивная форма среди первичных злокачественных опухолей ЦНС. Микроокружение опухоли оказывает существенное влияние на инвазивный потенциал глиобластомы. Актуальность данной работы заключается в создании сложных моделей глиобластомы, в которых анализируется взаимодействие клеток ГБМ с мезенхимальными стволовыми клетками (МСК) и/или эндотелиальными клетками (ЭК). Согласно многим

публикациям, МСК обладают как про-, так и противоопухолевыми свойствами при контакте с опухолевыми клетками [1]. Кроме этого, опухолевые и стромальные клетки в микросреде опухоли выделяют различные факторы роста, которые стимулируют ангиогенез, способствуя выживаемости и метастазированию опухоли [2]. Оценка их свойств изолированно от других клеток, окружающих опухоль, может привести к искажению результатов. С целью изучения внутриопухолевых клеточных взаимодействий были созданы как двухкомпонентные (ГБМ+МСК, ГБМ+ЭК), так и трехкомпонентная модель (МСК+ГБМ+ЭК) опухоли.

Для изучения путей взаимосвязи ангиогенеза и опухолевого роста созданные трехмерные модели сложных сфероидов, дополнительно трансфицированные или липофильно меченные флюоресцентными трейсерами, успешно имплантировали в мозг иммунодефицитных мышей. Было отмечено увеличение пролиферативного потенциала глиомных клеток в сфероиде в комбинации с HUVEC *in vivo*. В сравнении с простым сфероидом из клеток ГБМ (10–12 дней), длительность функционирования сложных ксенографтов в головном мозге возросла в 2–3 раза до 21 недели, с характерными признаками прогрессии по данным МРТ (ClinScan 7T, Bruker Biospin, Germany).

Сфероиды получали в процессе кокультивирования глиомных клеток, полученных из первичного материала пациентов ФНКЦ ФМБА и ФЦМН ФМБА (одобрение ЛЭК ФНКЦ ФМБА И ФЦМН ФМБА) и свежеприготовленных HUVEC (договор с роддомом №4 от 2020 г) в различном соотношении на низкоадгезивных планшетах. В динамике оценивали свойства сфероидов и их пролиферативную активность в лунке с помощью прибора CellInsight CX7 LED Pro HCS Platform. Динамика поведения клеток внутри сфероида отслеживали по флюоресцентной метке с помощью приборов EVOS M7000 Imaging System.

Таким образом, исследование и разработка сложной трехмерной модели опухоли представляет большой потенциал для прогресса в борьбе с раковыми заболеваниями. Работа выполнена в рамках гранта РНФ (№22-64-00057) и ГЗ ФМБА России («Персонализированная платформа для постоперационной иммунотерапии глиобластом»).

Список литературы

1. Uyar R. Glioblastoma microenvironment: The stromal interactions// Pathol Res Pract. — 2022 Apr. — No 232. — P. 153813. — doi: 10.1016/j.prp.2022.153813. Epub 2022 Feb 24. PMID: 35228161.
2. Li W., Zhou Z., Zhou X., Khoo B.L., Gunawan R., Chin Y.R., Zhang L., Yi C., Guan X., Yang M. 3D Biomimetic Models to Reconstitute Tumor Microenvironment In Vitro: Spheroids, Organoids, and Tumor-on-a-Chip// Adv. Healthcare Mater. — 2023. — No 12. — P. 2202609. — <https://doi.org/10.1002/adhm.202202609>

DEVELOPMENT OF A COMPLEX THREE-DIMENSIONAL MODEL OF A GLIOBLASTOMA TUMOR: PROSPECTS FOR THE STUDY OF TUMOR PROLIFERATION IN CO-CULTIVATION WITH STROMAL AND ENDOTHELIAL CELLS

Abstract. In order to maintain its growth and development, a malignant tumor interacts with the components of the microenvironment and forms a tumor stroma. In this work, by creating complex spheroids, we investigate the role of endothelial and mesenchymal stem cells in these processes.

Key words: glioblastoma, 3D model, mesenchymal stem cells, spheroid.

ИНГИБИРОВАНИЕ ТИОРЕДОКСИНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИВОДИТ К СНИЖЕНИЮ УСТОЙЧИВОСТИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ К ХИМИОТЕРАПИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-151-153

Т. К. Булгаков¹, В. И. Мещерякова², Е. С. Пешкова²,
Т. О. Абакумова³, М. Ю. Кордюкова², В. В. Белоусов^{2,3}

¹Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва,
Россия

³Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет
имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

E-mail: locusts2001@gmail.com

Аннотация. На первичных культурах стволовых клеток глиобластом было показано, что клетки, демонстрирующие резистентность к химиотерапевтическим препаратам, имеют также повышенную активность тиоредоксиновой антиоксидантной системы. Ингибирование тиоредоксинредуктазы делает клетки более чувствительными к действию химиотерапии.

Ключевые слова: стволовые клетки глиобластомы, тиоредоксинредуктазная антиоксидантная система, химиотерапия.

Глиобластома (ГБМ) — злокачественная опухоль головного мозга, отличающаяся высокой резистентностью к терапии. Агрессивность ГБМ во многом обуславливается наличием популяции стволовых клеток глиобластомы (СКГ) в опухоли [1]. Препараты, применяемые для химиотерапии ГБМ, индуцируют окислительный стресс, приводящий к гибели в основном опухолевых клеток, однако СКГ часто оказываются невосприимчивыми к нему. Известно, что раковые клетки развивают резистентность к терапии, активируя антиоксидантные системы [2]. В связи с этим цель настоящей работы — установление роли тиоредоксиновой антиоксидантной системы СКГ в развитии устойчивости глиобластомы к химиотерапии.

Для анализа использовали первичные культуры СКГ, полученные в нашей лаборатории из послеоперационного материала пациентов. Исследовали чувствительность культур к темозоломиду (ТМЗ) — основному препарату, применяемому в химиотерапии глиобластом. Содержание пероксида водорода H_2O_2 в клетках изучали с помощью генетически кодируемого флуоресцентного редокс-сенсора HuPer7 [3]. Тиоредоксиновую систему СКГ характеризовали, исследуя чувствительность клеток к действию ауранофина, ингибитора тиоредоксинредуктазы, а также определяя активность этого фермента в клетках.

Для 15 культур СКГ была определена чувствительность к ТМЗ, причем полулетальная концентрация препарата LC50 сильно варьировала от культуры к культуре — от 67 до 2000 μM . Кроме того, СКГ оказались чувствительными к ауранофину, демонстрируя LC50 от 0,1 до 3,2 μM . С помощью редокс-сенсора HuPer7 было показано, что базовые значения содержания H_2O_2 одинаковы для всех культур. При добавлении 5 μM H_2O_2 в клетках большей части культур наблюдалось увеличение уровня пероксида водорода в цитоплазме, однако у двух культур подобный ответ не развивался. Эти культуры демонстрировали нечувствительность к ТМЗ и повышенную устойчивость к ауранофину, а также повышенную активность тиоредоксинредуктазы. Это может указывать на то, что одним из ключевых факторов повышенной устойчивости СКГ к химиотерапии служит высокая активность АОС, в особенности тиоредоксиновой системы.

При этом для всех культур было продемонстрировано, что ауранофин сенсibiliзирует клетки к действию ТМЗ, причем взаимодействие двух препаратов носит синергический характер. Полученные нами данные о снижении резистентности СКГ к терапии под действием ауранофина могут служить основой для создания новых схем терапии для лечения ГБМ.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ
(грант № 22-75-10151).*

Список литературы

1. Piper K., et al. Glioma Stem Cells as Immunotherapeutic Targets: Advancements and Challenges // Front Oncol. — 2021 Feb. — V 24. — No 11. — P. 615704.

2. Olivier C., et al. Drug Resistance in Glioblastoma: The Two Facets of Oxidative Stress// *Front Mol Biosci.* — 2021 Jan. — V. 27. — No 7. — P. 620677.
3. Pak V. V., et al. Ultrasensitive Genetically Encoded Indicator for Hydrogen Peroxide Identifies Roles for the Oxidant in Cell Migration and Mitochondrial Function// *Cell Metab.* — 2020 Mar. — V. 3. — No 31(3). — P. 642–653.e6.

INHIBITION OF THE THIOREDOXIN ANTIOXIDANT SYSTEM LEADS TO A DECREASE IN THE RESISTANCE OF GLIOBLASTOMA STEM CELLS TO CHEMOTHERAPY

Abstract. In primary cultures of glioblastoma stem cells, it was shown that cells demonstrating resistance to chemotherapeutic drugs also have increased activity of the thioredoxin antioxidant system. Inhibition of thioredoxin reductase makes cells more sensitive to the effects of chemotherapy.

Key words: glioblastoma stem cells, thioredoxin reductase antioxidant system, chemotherapy.

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОФИНА-3 НА ПРЯМО РЕПРОГРАММИРОВАННЫЕ НЕРВНЫЕ КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИКИ И КЛЕТКИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ SK-N-BE(2)

DOI 10.24412/CL-37228-2024-154-156

Е. А. Архиреева¹, С. М. Кузнецова², Г. М. Юсубалиева^{1,2},
В. П. Баклаушев^{1,2}

¹Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, Москва, Россия

²Федеральный научно-клинический центр специализированных видов ФМБА России, Москва, Россия

E-mail: katerina.andreevna.mos98@list.ru

Аннотация. Было показано положительное влияние нейротрофина-3 на пролиферацию, жизнеспособность клеток и аксональный рост у клеток нейробластомы SK-N-BE(2) и прямо репрограммированных нервных клеток-предшественников с помощью тест-системы iCELLigence и флуоресцентной микроскопии.

Ключевые слова: нейротрофин-3, пролиферация, жизнеспособность, аксональный рост, drNPC, SK-N-BE(2).

Нейротрофин-3 (НТ-3) — белок, принадлежащий к семейству нейротрофинов. Он стимулирует рост симпатических и сенсорных нейронов, регулирует выживание, дифференцировку и пролиферацию клеток различных популяций в тканях центральной и периферической нервной системы. Благодаря своим хемотрофическим свойствам нейротрофин-3 способствует аксональному росту нейронов, возобновление которого критически важно для восстановления после спинальной травмы [1; 3]. Из-за неблагоприятных условий, развивающихся в месте повреждения, блокируется регенерация проводящих путей [2]. Нарушение трофики тканей приводит к снижению жизнеспособности как эндогенных клеток, так и применяемых в терапии клеточных культур. Экзогенное введение в место травмы факторов роста, в частности НТ-3, совместно с прямо репрограммированными нейрональными предшественниками мо-

жет оказать существенное содействие их приживлению, стимулировать нейрогенез, тем самым способствуя процессам заживления и росту аксонов [2; 3]. Целесообразно будет изучить воздействие НТ-3 на пролиферативный потенциал нервных клеток и рост аксонов *in vitro*.

Работа была выполнена на двух клеточных линиях: SK-N-BE(2) и drNPC (direct reprogrammed Neural Progenitor Cells). SK-N-BE(2) — клеточная линия нейробластомы, созданная в 1972 году на основе биопсии костного мозга, используется в неврологических исследованиях. Клетки drNPC, меченные GFP, были получены по протоколу Jan Eric Affort.

Для выявления функционального воздействия НТ-3 клетки SK-N-BE культивировали в планшете с адгезивной поверхностью в полной ростовой среде DMEM/F12 + 10% FBS + 1% pen-strep, а клетки drNPC — в планшете, дно лунок которого было покрыто матригелем Matrigel® Matrix, в среде Neurocult + 10% Supplement Ns-A + 1% pen-strep + B27 + EGF. После постепенного удаления в процессе культивирования факторов, имеющих положительное влияние на жизнеспособность и рост аксонов, наблюдали изменения в морфологии клеток и их пролиферации, а также укорочение длины отростков, либо отсутствие их роста. Затем в среду добавляли НТ-3 и наблюдали его дозозависимый эффект. В качестве контролей использовались клетки, выращиваемые в чистой среде или с добавлением различных комбинаций питательных компонентов. Результаты анализировались с помощью микроскопа ZEISS Primovert, системы визуализации Celena S и системы мониторинга пролиферации в реальном времени iCELLigence.

**Работа выполнена в рамках государственного задания
ФМБА России (НИР «Нейромат»)
и гранта РНФ 21-74-20110.**

Список литературы

1. Grill R., Murai K., Blesch A., Gage F.H., Tuszynski M. H. Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury// J Neurosci. — 1997 Jul. — V. 15. — No 17 (14). — P. 5560–5572.
2. Fawcett J.W., Asher R.A. The glial scar and central nervous system repair// Brain Res Bull. — 1999 Aug. — No 49 (6). — P. 377–391.

3. Bregman B.S., Coumans J.-V., Ning Dai Hai, Kuhn P.L., Lynskey J., McAtee M., Sandhu F. Transplants and neurotrophic factors increase regeneration and recovery of function after spinal cord injury // Prog Brain Res. — 2002. — No 137. — P. 257–273.

THE EFFECT OF NEUROTROPHIN-3 ON DIRECTLY REPROGRAMMED NERVE PROGENITOR CELLS AND NEUROBLASTOMA CELLS SK-N-BE(2)

Abstract. The positive effect of neurotrophin-3 on proliferation, cell viability and axonal growth in neuroblastoma cells SK-N-BE(2) and directly reprogrammed nerve progenitor cells (drNPC) was shown using the iCELLigence test system and fluorescence microscopy.

Key words: neurotrophin-3, proliferation, viability, axonal growth, drNPC, SK-N-BE(2).

ПОТЕНЦИАЛ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ *EZH2* В КАЧЕСТВЕ ТАРГЕТНОГО ГЕНА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПОДХОДОВ К ТЕРАПИИ ГЛИОБЛАСТОМЫ С ПОМОЩЬЮ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-157-159

А. В. Циммерман¹, М. Ю. Кордюкова², М. А. Сорокина³,
Д. Ю. Травникова³, В. В. Белоусов², Т. О. Абакумова³

¹Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М. В. Ломоносова

²ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России

³Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

E-mail: anita2420910@icloud.com

Аннотация. В данной работе была подобрана мишень для таргетной терапии глиобластомы, проведен синтез и дизайн siRNA к выбранному гену (*EZH2*), осуществлен нокдаун гена-мишени путем РНК-интерференции.

Ключевые слова: глиобластома, таргетная терапия, РНК-интерференция, siRNA, *EZH2*.

Глиобластома является одной из наиболее агрессивных опухолей головного мозга с высокой вероятностью рецидива. Первичной линией терапии глиобластомы является максимальная резекция с последующей радиотерапией и химиотерапией темозоломидом, однако опухоли часто развивают резистентность, чем и объясняется рецидив заболевания. Нами была поставлена цель поиска генов-мишеней, ингибирование которых поможет улучшить терапию глиом. Среди перспективных мишеней был выделен ген метилтрансферазы *EZH2* [1], эпигенетического модулятора хроматина, экспрессия которого повышена в клетках глиобластомы [2].

В нашей работе для ингибирования мишеней мы используем трансфекцию малых интерферирующих РНК (миРНК). На сегодняшний момент миРНК зарекомендовали себя как эффективный метод ингибирования, и препараты на их основе уже используются

в клинике [2; 3], а также хорошо показали себя в доклинических исследованиях в терапии других опухолей [4].

Нами был проведён анализ данных транскриптома клеточных линий глиобластомы, полученных от пациентов. Для подтверждения результатов анализа был оценен уровень экспрессии *EZH2* в первичных культурах от пациентов-доноров по сравнению с контролем (астроцитами, фибробластами) методом ПЦР в реальном времени (rt-PCR). Был проведён дизайн и синтез различных миРНК к *EZH2* для ингибирования гена путём РНК-интерференции, трансфекция клеток глиомы с помощью липофектамина. Эффективность ингибирования была оценена с помощью метода rt-PCR с отобранными праймерами к *EZH2*.

На основе данных транскриптома различных клеточных линии первичных культур были выбраны линии пациентов с повышенной экспрессией *EZH2* для дальнейших исследований. Методом rt-PCR было показано, что уровень мРНК *EZH2* повышается более чем в 7–20 раз относительно контроля (астроциты, фибробласты), что согласуется с данными, полученными при анализе транскриптома. На клеточной линии глиомы U87 было продемонстрировано, что инкубация клеток глиобластомы с выбранными миРНК в течение 72 часов позволяет эффективно снизить уровень мРНК *EZH2* по сравнению с контролем. Была выбрана последовательность миРНК с наиболее эффективными ингибирующими свойствами.

Полученные данные подтверждают перспективность использования *EZH2* в качестве мишени для терапии. Суммируя, ингибирование *EZH2* может быть эффективным способом борьбы с глиобластомой, особенно в сочетании с другими лекарственными препаратами, что открывает новые возможности для комбинированной терапии.

*Работа была выполнена
при поддержке гранта РФФ 22-75-10151.*

Список литературы

1. Stitzlein., et al. Current and future therapeutic strategies for high-grade gliomas leveraging the interplay between epigenetic regulators and kinase signaling networks// Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. — 2024. — No 43. — P. 12.
2. Crea F, Hurt E. M. & Farrar W. L. Clinical significance of Polycomb gene expression in brain tumors// Mol Cancer — 2010. — No 9. — P. 265.

3. Khaitov M., Nikonova A., Kofiadi I., et al. Treatment of COVID-19 patients with a SARS-CoV-2-specific siRNA-peptide dendrimer formulation//Allergy. — 2023. — No 78. — P. 1639–1653.
4. Hoy S.M. Patisiran: First Global Approval// Drugs. — 2018. — No 78. — P. 1625–1631.
5. Prikazchikova T. A., Abakumova T. O., Sergeeva O. V., et al. Design and Validation of siRNA Targeting Gankyrin in the Murine Liver// Russ J Bioorg Chem. — 2021. — No 47. — P. 441–446.

THE POTENTIAL OF *EZH2* METHYLTRANSFERASE AS A TARGETED GENE FOR THE DEVELOPMENT OF NEW APPROACHES TO GLIOBLASTOMA THERAPY USING RNA INTERFERENCE

Abstract. In this work, a target was selected for targeted therapy of glioblastoma, the synthesis and design of siRNA to the selected gene (*EZH2*) was carried out, and the knockdown of the target gene was done by RNA interference.

Key words: glioblastoma, targeted therapy, RNA interference, siRNA, *EZH2*.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВИРОВАННЫХ ТРАКТОВ ОТ СТИМУЛЯЦИИ ГЛУБИННЫХ МОЗГОВЫХ СТРУКТУР ЧЕЛОВЕКА В ОБЛАСТИ БЛЕДНОГО ШАРА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА И ДИСТОНИИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-160-162

О. И. Сазонов^{1,2}, И. З. Джалагония¹, А. С. Седов^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)

²Институт химической физики имени Н. Н. Семёнова РАН

Аннотация. Определение активированных трактов при стимуляции глубинных мозговых структур (DBS) пациентов с болезнью Паркинсона и дистонии путем нейровизуализации и моделирования активированной зоны стимуляции (VTA) в области бледного шара.

Ключевые слова: стимуляция глубинных мозговых структур, нейровизуализация, болезнь Паркинсона, дистония.

Глубокая стимуляция головного мозга (DBS) является признанным методом лечения двигательных расстройств, таких как болезнь Паркинсона (БП) и цервикальная дистония [1]. Эта методика заключается в имплантации многоконтактных электродов в области базальных ганглиев и создании препятствия на пути патологического сигнала. Одной из наиболее значимых мишеней для стимуляции при этих заболеваниях является бледный шар (globus pallidus), который состоит из двух сегментов: GPi и GPe [2]. Клинический эффект от данной операции напрямую зависит от расположения электрода и программы стимуляции, однако, несмотря на многочисленные исследования в этой области, все еще отсутствует единое мнение о том, каким образом достигается положительный эффект. Размер клинического улучшения также сильно варьируется от пациента к пациенту. В связи с этим, необходимы групповые исследования, включающие установку электродов и программу стимуляции, которые могут всесторонне помочь в изучении взаимосвязей между местами стимуляции и клиническими исходами.

Известно, что DBS путем активации аксонов может вызывать возбуждение даже в отдаленных от участка стимуляции зонах головного мозга [3]. Это воздействие может быть одной из причин получаемого клинического эффекта. В рамках работы рассматривается зависимость активированных трактов от DBS и зона пересечения области стимуляции (Volume of Tissue Activated, VTA) в мишени GP для пациентов с БП и дистонией.

Анализ проводился путем нейровизуализации структур головного мозга и моделирования стимуляции для каждого пациента по отдельности и в группе. В исследование были включены 6 пациентов с цервикальной дистонией и 5 пациентов с болезнью Паркинсона, которым была показана имплантация DBS-электродов компаний Medtronic и Boston Scientific в область GPi, а также их процентное улучшение моторной шкалы UPDRS-III и BFMDRS соответственно. Локализация DBS-электродов, моделирование VTA было проведено путем реконструкции по предоперационным данным МРТ и постоперационной КТ с применением программного обеспечения Lead-DBS (<http://www.lead-dbs.org/>). Расчет VTA проводился на основе интраоперационных данных программы стимуляции. Для настоящего анализа мы выбрали пути передачи сигнала, которые проходили через VTA и заканчивались в различных областях сенсомоторной коры. Для исследования влияния стимуляции на тракты головного мозга были проведены массово-одномерные Т-тесты для каждого участка нормативного тракта между значениями улучшения от стимуляции и связанной зоной VTA. Затем волокна были помечены цветом по их Т-значению. Этот анализ показал скопление волокон, стремящихся в область первичной моторной коры для группы с БП [4], а в случае дистонии возбуждение распространялось в область дополнительной моторной коры и мозжечка.

Список литературы

1. Kupsch A., Benecke R., Müller J., Trottenberg T. Pallidal deep-brain stimulation in primary generalized or segmental dystonia // N. Engl. J. Med. — 2006. — V. 355. — P. 1978–1990.
2. Schuepbach W.M.M. [et al.]. Neurostimulation for Parkinson's disease with early motor complications // N. Engl. J. Med. — 2013. — V. 368. — P. 610–622.

3. Volkman J. [et al.]. Probabilistic mapping of the antidystonic effect of pallidal neurostimulation: a multicenter imaging study// BRAIN. — 2019. — V. 142. — P. 1386–1398.
4. Horn A. [et al.]. Deep brain stimulation: Imaging on a group level// NeuroImage. — 2020. — V. 219.

INVESTIGATION OF ACTIVATED TRACTS FROM STIMULATION OF DEEP HUMAN BRAIN STRUCTURES IN THE AREA OF THE PALE GLOBE IN PARKINSON'S DISEASE AND DYSTONIA

Abstract. Determination of activated tracts during stimulation of deep brain structures (DBS) in patients with Parkinson's disease and dystonia by neuroimaging and modeling of the activated stimulation zone (VTA) in the area of the pale globe.

Key words: stimulation of deep brain structures, neuroimaging, Parkinson's disease, dystonia.

**СЕКЦИЯ
«НЕЙРОИНЖЕНЕРИЯ
И НЕЙРОИНТЕРФЕЙСЫ»**

КО-КУЛЬТИВАЦИЯ ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУР НЕЙРОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК РЫБЫ *Danio rerio* В ГРАДИЕНТ-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-164-166

В. С. Лагунов, С. В. Жирнов, С. Ш. Каршиева,
Т. А. Тунекон, Ф. С. Сенатов

Национальный исследовательский технологический университет
«МИСИС», Москва, Россия
E-mail: m2103383@edu.misis.ru

Аннотация. Ко-культивация трёхмерных клеточных культур может обеспечить максимально близкое воспроизведение физиологических свойств нативной ткани *in vitro*. Разработанная нами градиент-продуцирующая система позволяет изучить влияние градиента концентрации биологически активных молекул на направление роста и дифференцировку одномерной первичной нейроглиальной культуры рыбы *Danio rerio* при ко-культивации с клетками в трехмерной матрице на основе гидрогеля.

Ключевые слова: 3D-культура клеток, градиент-продуцирующая система, градиент концентрации, *Danio rerio*, первичная нейроглиальная культура.

Трёхмерные матрицы на основе гидрогеля представляют собой многообещающую модель для исследований нейрональных клеток в норме и патологии *in vitro*, позволяя более точно, по сравнению с одномерными культурами, воспроизводить физиологические свойства нативной ткани [1]. Ко-культивация нейронов различных структур ЦНС обеспечивает потенциал проводить комплексные исследования электрофизиологических, метаболических и генетических факторов, опосредующих нейрогенез и патогенез человека [2; 3].

Факторы роста играют важную роль в развитии и регенерации нервной системы путем стимуляции роста, дифференцировки и направления нейрональных отростков. В данном исследовании было разработано градиент-продуцирующее устройство (ГПУ), которое способно создавать градиент концентрации факторов роста для направления нейритов и изучения сформированной внутри гидро-

геля нейроглиальной сети с использованием гистологических методов и конфокальной микроскопии. Система включает в себя корпус из трех деталей и крепежные болты из полиамида, две камеры с микропористой трековой мембраной из полиэтилентерефталата (ПЭТФ), уплотнительные кольца из силикона, закрепленные с использованием полидиметилсилоксанового компаунда, а также альгинат-желатиновый гидрогель.

Микропористая мембрана, размещенная между двумя камерами, используется для отделения сомы нейронов от нейритов. В нижней камере расположен двухслойный гидрогель из альгинат-желатина, сшитый раствором CaCl_2 с концентрацией 0,4 М. В проведенном исследовании первый слой содержит первичную культуру нейрональных клеток рыбы *Danio rerio*, а второй слой — фактор роста NGF, диффундирующий вверх. Через верхнюю камеру нейроны *Danio rerio*, помеченные CFSE для отслеживания нейритов, посажены на мембрану для роста нейритов в направлении положительного градиента концентрации хемоаттрактантов внутрь геля. В исследовании сделаны гистологические срезы композита из гидрогеля с клетками и полимера с максимальным сохранением структуры системы, что позволяет детально наблюдать за морфологией, полученной нейроглиальной сети.

Список литературы

1. Bellamkonda R., et al. Hydrogel-based three-dimensional matrix for neural cells// Journal of biomedical materials research. — 1995. — V. 29. — No. 5. — P. 663–671.
2. Andersen J., et al. Generation of functional human 3D cortico-motor assembloids// Cell. — 2020. — V. 183. — No 7. — P. 1913–1929. e26.
3. Zhou L., et al. In Vitro Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis// Cellular and Molecular Neurobiology. — 2023. — V. 43. — No 8. — P. 3783–3799.

CO-CULTIVATION OF PRIMARY CULTURES OF NEURONAL CELLS OF DANIO RERIO FISH IN A GRADIENT-PRODUCING SYSTEM

Abstract. The co-cultivation of three-dimensional cell cultures can ensure the closest possible reproduction of the physiological properties of native tissue *in vitro*. The gradient-producing system that we developed allows us to study the

effect of the concentration gradient of biologically active molecules on the growth direction and differentiation of the one-dimensional primary neuroglial culture of *Danio rerio* fish during co-cultivation with cells in a three-dimensional hydrogel-based matrix.

Key words: 3D cell culture, gradient-producing system, concentration gradient, *Danio rerio*, primary neuroglial culture.

РАЗРАБОТКА РАСТЯЖИМЫХ ЭЛЕКТРОДНЫХ МАТРИЦ ДЛЯ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИИ И ИНВАЗИВНЫХ НЕЙРОИНТЕРФЕЙСОВ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-167-169

Т.А. Тунеков, С.В. Жирнов, В.С. Лагунов, Ф.С. Сенатов

Национальный исследовательский технологический университет

«МИСИС», Москва, Россия

E-mail: m2009610@edu.misis.ru

Аннотация. Мы использовали аддитивный метод для фабрикации электродных матриц с применением композиционного токопроводящего материала. Были изучены электрические и электромеханические свойства синтезированного композиционного полимерного материала. Полученный материал обладает меньшим, чем проводящие полимеры, электрическим сопротивлением, а также механическими свойствами, близкими к коже человека, что позволяет ему растягиваться и изгибаться с малыми изменениями импеданса.

Ключевые слова: электродные матрицы, электромиография, нейроинтерфейсы, композиционные материалы, 3D печать.

На данный момент коммерческие электродные матрицы для электромиографии и инвазивных нейроинтерфейсов разрабатываются методами фотолитографии на полимерной подложке с использованием металлов в качестве материалов электродов [1]. Для фабрикации электродных матриц методом фотолитографии необходимо подготавливать шаблоны в течение длительного времени, а сам метод фотолитографии является многоступенчатым и дорогостоящим процессом. Матрицы, полученные методом фотолитографии, широко применяются в нейроинтерфейсах для считывания электрофизиологической активности, а также для стимуляции нервной ткани, но их механические свойства, такие как модуль упругости и предел прочности, не соответствуют механическим характеристикам нервной ткани и кожи человека [2]. В результате электродные матрицы в электромиографии быстро выходят из строя при большом количестве циклов изгиба и не могут быть

растянуты, что затрудняет считывание сигналов с сильно изгибающихся мышц. При использовании данных электродных матриц в инвазивных нейроинтерфейсах невозможно добиться долгосрочной биосовместимости из-за реакции организма на инородное тело, которое значительно отличается по механическим свойствам от нервной ткани [3].

В данной работе используется композиционный материал на основе термопластичного полиуретана (Elastolan 1170A, BASF) и многостенных углеродных нанотрубок (Таунит-М) в качестве электропроводящего наполнителя. Удельное электрическое сопротивление синтезированного материала составило порядка 1–10 кОм*мм, что значительно превышает значения, характерные для металлических электродных матриц, однако материал, полученный в данной работе, растяжимый и близок по своим механическим свойствам к нервной ткани и коже человека. Такие свойства позволяют электродной матрице растягиваться вместе с кожей, обеспечивая постоянное считывание потенциала мышечной активности с одного и того же участка, что является важным критерием для точного считывания сигналов.

Для фабрикации электродных матриц в данной работе используется технология поршневой экструзионной 3D печати, которая позволяет формировать многослойные электродные матрицы в рамках одного технологического процесса. Таким образом, этот метод не только позволяет сократить время изготовления, но и существенно снижает стоимость конечного продукта по сравнению с литографическими технологиями.

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Министерства науки и высшего образования Российской Федерации
в рамках программы стратегического академического лидерства
«Приоритет 2030».*

Список литературы

1. Cheng L., et al. Recent advances in flexible noninvasive electrodes for surface electromyography acquisition// npj Flexible Electronics. — 2023. — V. 7. — No 1. — P. 39.
2. Zhang M., et al. Electronic neural interfaces// Nature Electronics. — 2020. — V. 3. — No 4. — P. 191–200.
3. Tanwar A., et al. A review on microelectrode array fabrication techniques and their applications// Materials Today Chemistry. — 2022. — V. 26. — P. 101153.

DEVELOPMENT OF STRETCHABLE ELECTRODE ARRAYS FOR ELECTROMYOGRAPHY AND INVASIVE NEURAL INTERFACES

Abstract. We used an additive method to fabricate electrode arrays using a composite conductive material. The electrical and electromechanical properties of the synthesized composite polymer material were studied. The resulting material has less electrical resistance than conductive polymers, as well as mechanical properties close to human skin, which allows it to stretch and bend with small changes in impedance.

Key words: electrode arrays, electromyography, neurointerfaces, composite materials, 3D printing.

ГИБКИЕ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ СИЛИКОНА И УГЛЕРОДНЫХ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫХ НАПОЛНИТЕЛЕЙ ДЛЯ НЕЙРОУСТРОЙСТВ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-170-172

В. И. Жуков¹, Г. О. Молоканов¹, С. О. Кириченко²,
О. А. Москалюк¹

¹Балтийский Федеральный Университет имени Иммануила Канта,
Калининград, Россия

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

E-mail: vitaily.zhukov@yandex.ru

Аннотация. Разработка гибких электродов на силиконовой матрице с различными высокодисперсными углеродными наполнителями. С помощью смешивания мы сравнили и провели замеры проводимости композитов с различными высокодисперсными углеродными наполнителями на основе силикона. Было выявлено что добавление анизодиаметрических частиц позволяет сдвинуть порог протекания электрического тока в сторону меньших концентраций более чем на 2 порядка по сравнению с частицами сферической формы.

Ключевые слова: композитные материалы, углеродные наполнители, гибкие электроды, силикон.

Нейроустройства, как разновидность медицинских изделий, делятся на контактирующие с поверхностью тела и имплантируемые. Материалы для нейроимплантов должны удовлетворять требованиям биосовместимости, атоксичности, по деформационно-прочностным приближаться к тканям тела. Перспективным материалом для создания нейроустройств является силикон за счет его термической и химической стабильности, атоксичности и низкой жесткости. Придание силикону проводящих свойств позволяет применять его в качестве элемента для нейроустройств, отвечающих за передачу биоэлектрических потенциалов. Углеродные высокодисперсные наполнители, такие как технический углерод, графен, углеродные нанотрубки и углеродные нановолокна, применяются в качестве компонентов

для создания электропроводящих композитов. Такие материалы являются совместимыми с силиконовыми полимерными матрицами и могут быть использованы при изготовлении нейроустройств. Использование композитных материалов на основе силикона и углеродных наполнителей считается перспективным в области электрической медицинской аппаратуры из-за необходимости интеграции гибкой электроники. Для разработки датчиков, электродов и проводящих путей в таких устройствах учитываются вязкоупругие свойства и электропроводящие характеристики композитного материала.

Наша работа, реализуемая на базе лаборатории «Полимерные и композиционные материалы SmartTextiles» БФУ имени И.Канта, посвящена выработке технологических подходов для создания электропроводящих гибких систем на основе силикона и разных углеродных наполнителей. Решаются задачи придания материалу необходимых электрических и механических свойств и их сохранения при эксплуатационных деформационных нагрузках. В наших предыдущих исследованиях были установлены зависимости электрических свойств композитов от типа и формы высокодисперсных углеродных наполнителей.

Электропроводящие системы на основе силикона и углеродных высокодисперсных наполнителей разрабатываются нами для применения в качестве датчиков и проводящих систем в медицинских изделиях: носимые электрохимические датчики, электроды для считывания биопотенциалов, проводящие пути и подложки. Устройства на основе таких композитов способны сохранять электропроводимость при деформации, что критично как для инвазивных, так и неинвазивных медицинских устройств. Например, в случае носимого датчика на коже необходимо учитывать возможные деформации при движении человека, поэтому материал должен сохранять свои эксплуатационные электрические свойства при изгибе и растяжении.

Список литературы

1. Yang W., Gong Y. and Li W. A Review: Electrode and Packaging Materials for Neurophysiology Recording Implants// *Front. Bioeng. Biotechnol.* — 2021. — V. 8.
2. Sung-Jun Lee, Chang-Lae Kim. Highly flexible, stretchable, durable conductive electrode for human-body-attachable wearable sensor application// *Polymer Testing.* — 2023. — V. 122.

3. Pyo S., Eun Y., Sim J., et al. Carbon nanotube-graphene hybrids for soft electronics, sensors, and actuators// *Micro and Nano Syst Lett.* — 2022.
4. Oh J. Y., Jun G. H., Jin S., Ryu H. J., Hong S. H. Enhanced Electrical Networks of Stretchable Conductors with Small Fraction of Carbon Nanotube/Graphene Hybrid Fillers// *ACS Appl Mater Interfaces.* — 2016.

FLEXIBLE ELECTRICALLY CONDUCTIVE SYSTEMS BASED ON SILICONE AND CARBON-BASED HIGHLY DISPERSED FILLERS FOR NEURAL DEVICES

Abstract. Development of flexible electrodes on a silicone matrix with various highly dispersed carbon fillers was conducted. By mixing, we compared and measured the conductivity of composites with various highly dispersed carbon fillers based on silicone. It was found that the addition of anisodiametric particles makes it possible to shift the threshold of electric current flow towards lower concentrations by more than 2 orders of magnitude compared with spherical particles.

Key words: composite materials, carbon fillers, flexible electrodes, silicone.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ 3D-БИОПЕЧАТНЫХ КОНСТРУКЦИЙ СЛОЖНОЙ ФОРМЫ С ПОМОЩЬЮ ФОТОИНДУЦИРОВАННОГО УДАЛЕНИЯ СФЕРОИДОВ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-173-175

А. С. Баранова^{1,2}, А. Р. Илясов^{1,2,3}, С. М. Деев²

¹НИЯУ МИФИ, Москва, Россия

²ИБХ РАН, Москва, Россия

³НИТУ МИСиС, Москва, Россия

E-mail: mrsvinograd@gmail.com

Аннотация. В данной работе была проверена работоспособность методики биопечати тканевыми сфероидными с использованием наночастиц, активируемых лазером, на агрегате из сфероидов с наночастицами, жертвенными, и без них, как имитации единичного слоя объемной конструкции. Было показано, что фототермия такого агрегата вызывает локальную гибель клеток, находящихся вблизи наночастиц, не влияя на жизнеспособность остальной конструкции. Более того, после проведения фототермии упрощается процедура извлечения жертвенного материала для формирования будущих полостей.

Ключевые слова: биопечать, тканевые сфероиды, наночастицы, фототермия.

В последние годы активно развивается область регенеративной медицины, в том числе технологии, связанные с 3D-биопечатью. Биопечатные конструкции используются для моделирования патологических процессов внутри организма, также по мере совершенствования получаемых структур их планируют использовать в трансплантологии. Усложнение конструкций ставит перед исследователями новые и новые задачи, и наиболее остро сейчас стоят вопросы васкуляризации и иннервации тканеинженерных конструктов [1]. В настоящее время существует несколько стратегий биопечати полых сосудов и создания сосудистой сети внутри напечатанных структур, включающие использование биополимеров и различных добавок, однако их реализация сопряжена с определенными трудностями.

Была предложена инновационная методика биопечати объемных конструкций тканевыми сфероидными с использованием «жертвенного» клеточного материала [2]. В данной работе в качестве такого материала используются сфероиды с наночастицами, обладающими свойствами фототермальной конверсии [3]. Облучение лазером напечатанных конструкций должно индуцировать гибель «жертвенных» сфероидов для облегчения их дальнейшего удаления.

В ходе работы были исследованы фототермические и цитотоксические свойства наночастиц Ti_3C_2 на клеточной культуре НЕК293Т с помощью лазера длиной волны 808 нм. Далее с помощью микротензиометрии и красителя CellROX оценено воздействие гипертермии на клеточные сфероиды. Была изучена эволюция агрегатов из сфероидов, с наночастицами и без, в течение времени, а также с помощью окрашивания йодидом пропидия измерено воздействие лазерного излучения на полученные структуры.

Было показано, что наночастицы Ti_3C_2 позволяют эффективно осуществлять фототермальную конверсию и при концентрации 50 мкг/мл позволяют достигнуть необходимой температуры для активации контролируемой гибели клеток. При нагреве до температур ниже 45°C не наблюдается изменения упругих свойств сфероидов, показано, что идет активное выделение активных форм кислорода. При более высоких температурах модуль Юнга сфероидов значительно увеличивается, что вызвано денатурацией белков, и клетки в составе сфероидов погибают.

Облучение агрегатов из различных сфероидов позволяет индуцировать гибель сфероидов с наночастицами, сводя к минимуму воздействие на сфероиды без наночастиц. Фототермия способствует облегченному извлечению «жертвенных» сфероидов для создания полостей, позволяя поддерживать сохранность окружающего материала.

Список литературы

1. Chae S., Ha D.-H., Lee H. 3D bioprinting strategy for engineering vascularized tissue models// Int. J. Bioprinting. — May 2023. — Vol. 9. — No 5. — P. 748. — doi: 10.18063/ijb.748.
2. Robu A., Mironov V., Neagu A. Using Sacrificial Cell Spheroids for the Bioprinting of Perfusable 3D Tissue and Organ Constructs: A Computational Study// Comput. Math. Methods Med. — May 2019. — Vol. 2019. — P. 1–9. — doi: 10.1155/2019/7853586.

3. Kabashin A. V., Meunier M. Femtosecond laser ablation in aqueous solutions: a novel method to synthesize non-toxic metal colloids with controllable size // J. Phys. Conf. Ser. — Apr. 2007. — Vol. 59. — P. 354–359. — doi: 10.1088/1742-6596/59/1/074.

TECHNOLOGY FOR CREATING 3D BIO-PRINTED STRUCTURES OF COMPLEX SHAPE USING PHOTOINDUCED REMOVAL OF SPHEROIDS

Abstract. In this work, the efficiency of the bioprinting technique with tissue spheroids using laser-activated nanoparticles on an aggregate of spheroids with and without sacrificial nanoparticles, as an imitation of a single layer of a volumetric structure, was tested. It has been shown that photothermy of such an aggregate causes local cell death in the vicinity of nanoparticles, without affecting the viability of the rest of the structure. Moreover, after phototherapy, the procedure for extracting sacrificial material for the formation of future cavities is simplified.

Key words: bioprinting, tissue spheroids, nanoparticles, phototherapy.

ТРЕХКАМЕРНЫЙ МИКРОФЛЮИДНЫЙ ЧИП ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ИНТЕГРАЦИИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК В НЕЙРОНАЛЬНЫЕ СЕТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК

DOI 10.24412/CL-37228-2024-176-178

М. С. Землянсков¹, А. А. Гладков^{1,2}, Я. И. Пигарева^{1,2},
В. Н. Колпаков^{1,2}, В. Б. Казанцев^{1,2}, И. В. Мухина^{1,2},
А. С. Пимашкин¹

¹Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

²ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

E-mail: zemlyanskov@neuro.nnov.ru

Аннотация. Была создана экспериментальная модель интеграции прогениторных клеток в сформированные нейрональные сети в трехкамерном микрофлюидном чипе. Прогениторные клетки встроились в общую нейрональную сеть и участвовали в передаче пачек импульсов начиная с 20 дня развития культуры.

Ключевые слова: мозг-на-чипе, микрофлюидика, электрофизиология, нейрональные сети.

Актуальной задачей регенеративной медицины является экспериментальное моделирование травмы и восстановления функциональных связей иерархической структуры сети нейронов. Данный вопрос может быть решен с помощью культивирования клеток в связанных микроканалами камерах внутри микрофлюидного чипа [2]. Сочетание преимуществ микрофлюидики и возможностей использования стволовых клеток позволит изучать механизмы восстановления функциональной структуры нейронных сетей в области травмы мозга. Малоизученным вопросом в данной области исследований является механизм интеграции новых клеток в сформированные нейрональные сети, а также их влияние на активность нейрональных сетей дифференцированных клеток.

В исследовании использовались микрофлюидные чипы с тремя камерами, последовательно соединенными шестнадцатью микроканалами [3]. Микроканалы обеспечивали преимущественно однонаправленный рост отростков нейрональных клеток. Клетки неокортекса мыши C57BL/6 E13 использовались в качестве доступного источника нейрональных прогениторных клеток (НПК) [1]. НПК интегрировались в область между подсетями дифференцированных нейрональных клеток, полученных из неокортекса мыши E18. Биоэлектрическую активность регистрировали с помощью микроэлектродных матриц, и сравнивали спонтанную активность в нейрональных сетях при интеграции НПК и при интеграции дифференцированных нейрональных клеток E18.

Обнаружено, что на 15 день развития культур вероятность распространения спонтанных сетевых пачек импульсов между камерами была значительно ниже у культур с интегрированными НПК, чем у культур с дифференцированными нейрональными клетками. Начиная с 20 дня развития вероятность распространения сетевых пачек не различалась. Таким образом, интегрированные НПК формировали функциональные связи с сетями дифференцированных нейрональных клеток с заданным направлением распространения биоэлектрической активности.

Разработанная микрофлюидная система с интеграцией НПК в зрелую нейрональную сеть может быть использована для моделирования многослойной гетерогенной архитектуры сетей для изучения взаимодействия клеток («мозг-на-чипе»). Нейрональная сеть может быть выращена из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека и использована для фармакологического скрининга и фундаментальных исследований характеристик обработки информации.

*Исследование выполнено при поддержке гранта
Российского научного фонда
(проект № 21-75-10154).*

Список литературы

1. Di Bella D. J. Molecular logic of cellular diversification in the mouse cerebral cortex / D. J. Di Bella [et al.] // Nature. — 2021. — V. 595. — No 7868. — P. 554–559.
2. Gladkov A. Design of cultured neuron networks in vitro with pre-defined connectivity using asymmetric microfluidic channels/

- A. Gladkov [et al.]// Scientific reports. — 2017. — V. 7. — No 1. — P. 15625.
3. Shimba K. Functional scaffolding for brain implants: engineered neuronal network by microfabrication and iPSC technology/ K. Shimba [et al.]// Frontiers in Neuroscience. — 2019. — V. 13. — P. 462718.

A THREE-CHAMBER MICROFLUIDIC CHIP FOR STUDYING THE INTEGRATION OF NEURONAL PROGENITOR CELLS INTO NEURONAL NETWORKS OF DIFFERENTIATED CELLS

Abstract. An experimental model of the integration of progenitor cells into the formed neural networks in a three-chamber microfluidic chip was created. Progenitor cells were integrated into the general neural network and participated in the transmission of packets of impulses starting from the 20th day of culture development.

Key words: brain-on-a-chip, microfluidics, electrophysiology, neural networks.

РАЗРАБОТКА АППАРАТНО-ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ МАГНИТНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

DOI 10.24412/CL-37228-2024-179-181

Р. К. Калимуллин¹, Е. С. Антипушина^{1,2}, М. П. Кнышенко¹,
Н. В. Сыров¹

¹Центр нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана,
Сколковский институт науки и технологии, Москва, Россия

²Лаборатория искусственного интеллекта для биомедицины, BIMA-lab,

Университет Шарджи, Объединенные Арабские Эмираты

E-mail: Ruslan.Kalimullin@skoltech.ru

Аннотация. В данном проекте предложено интегрировать модуль биологически обратной связи, контролируемый миографическим сигналом, с существующими системами транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС), что позволяет создать закрытый контур стимуляции. Разработанный прототип устройства обеспечивает обратную связь с задержкой в 40 миллисекунд между обнаружением движения и наблюдением моторного вызванного потенциала, что может значительно улучшить эффективность нейрореабилитации и расширить применимость ТМС в клинической практике.

Ключевые слова: транскраниальная магнитная стимуляция, нейрореабилитация, биологически обратная связь, нейромодуляция.

В современной медицинской практике транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС) выступает как передовой метод лечения двигательных нарушений, вызванных повреждением центрального двигательного звена [1]. Использование ТМС в реабилитации предполагает аппликацию частотного протокола стимуляции в определенную область коры, например, пациентам после инсульта проводят высокочастотную стимуляцию моторной коры пораженного полушария с целью повышения возбудимости моторных сетей мозга, их реактивации и запуска пластических перестроек. Несмотря на значительный потенциал, в ряде случаев терапевтические и ре-

абилитационные протоколы ТМС оказываются неэффективными и неудобными для пациентов: процедуры могут занимать длительное время, при этом результаты не гарантированы в долгосрочной перспективе, что частично объясняется отсутствием функциональности в подходах к нейромодуляции. В то же время существует метод функциональной электрической стимуляции (ФЭС), который предполагает стимуляцию периферических нервов и мышц для запуска функционального движения. Данный тип стимуляции в реабилитационной практике может использоваться в составе контура нейроинтерфейса, в котором намерение пациента к совершению движения приводит к реальному движению через запуск ФЭС [2; 3]. Однако стимуляция периферического моторного звена в контуре нейроинтерфейса может иметь меньшую эффективность, чем стимуляция центрального, так как между намерением пациента к движению и обратной связью (реальное движение) проходит время большее, чем в естественном двигательном контуре. Задержка подкрепления может играть решающее значение для стимуляции пластичности и восстановления двигательных функций.

В ответ на существующие ограничения ТМС и привлекательность создания нейротренажера с центральной функциональной стимуляцией, предоставляющей минимальную задержку подачи обратной связи в контуре нейроинтерфейса, настоящий проект предлагает внедрить аппаратно-программный комплекс, расширяющий функционал существующих систем ТМС модулем миографически-контролируемой обратной связи. В такой связке ТМС запускается в ответ на детектирование прироста ЭМГ сигнала, например, в момент, когда пациент, перенесший инсульт, совершает попытку запуска движения парализованной конечностью. В момент фиксации попытки к движению система отправляет пачку стимулов на ТМС, вызывающих функциональное движение. Разработанный командой проекта прототип устройства предлагает отправку обратной связи с задержкой в 40 миллисекунд между детекцией движения и началом стимуляции. Так же как и ФЭС, использование функциональной ТМС в контуре миографического интерфейса приводит к движению, однако в случае с ТМС движение запускается через стимуляцию центральных звеньев моторной системы (моторная кора, спинной мозг). Такой подход расширяет применимость ТМС в клинической практике и предлагает новый метод нейрореабилитации, который может обладать высокой эффективностью.

Список литературы

1. Edwards M. J., Talelli P., Rothwell J. C. Clinical applications of transcranial magnetic stimulation in patients with movement disorders // *The Lancet Neurology*. — 2008. — V. 7. — No 9. — P. 827–840.
2. Yakovlev L., Syrov N., & Kaplan A. Investigating the influence of functional electrical stimulation on motor imagery related μ -rhythm suppression // *Frontiers in Neuroscience*. — 2023. — No 17. — P. 1202951.
3. Боброва Е. В., Решетникова В. В., Фролов А. А., Герасименко Ю. П. Воображение движений нижних конечностей для управления системами «интерфейс мозг-компьютер» // *Журнал высшей нервной деятельности им. ИП Павлова*. — 2019. — № 69(5). — С. 529–540.

DEVELOPMENT OF A HARDWARE AND SOFTWARE PACKAGE FOR PERSONALIZED TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION BASED ON BIOFEEDBACK

Abstract. In this project, it is proposed to integrate a biofeedback module controlled by a myographic signal with existing transcranial magnetic stimulation (TMS) systems, which allows you to create a closed stimulation circuit. The developed prototype device provides feedback with a delay of 40 milliseconds between motion detection and observation of motor evoked potential, which can significantly improve the effectiveness of neurorehabilitation and expand the applicability of TMS in clinical practice.

Key words: transcranial magnetic stimulation, neurorehabilitation, biofeedback, neuromodulation.

Электронное научное издание

LIFT
ШКОЛА МОЛОДОГО НЕЙРОТЕХНОЛОГА:

**Тезисы участников конференции
(26–27 апреля 2024 года)**

Текстовое электронное издание

*Разработано с помощью программного обеспечения
Microsoft Office Word, Adobe Acrobat Pro*

Издано в авторской редакции.

Компьютерная верстка *И. Ковель*
Дизайн обложки *В.Р. Хованской*

Подписано к использованию 05.07.2024. Объем издания 2,0 Мб.
Гарнитура Minion Pro.

Издательство ООО «Квант Медиа»
125475, г. Москва, ул. Дыбенко, д. 26, корп. 3, к. 80
www.kvantmedia.ru